

**Langzeitwirkung synthetischer Sexualsteroid e oraler
Kontrazeptiva auf das oxidative Gleichgewicht des
menschlichen Organismus**

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr.med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von

Stephanie Jeanette Bremicker

geboren am 3. Januar 1977

in Backnang

Gutachter

1. Prof. Dr. G. Klinger
2. Prof. Dr. K. Winnefeld
3. Prof. Dr. W. Römer

Tag der öffentlichen Verteidigung: 4. März 2003

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	III
1. EINLEITUNG	1
<u>1.1 Oxidativer Stress</u>	1
1.1.1 Freie Radikale und Radikalentstehung	2
1.1.2 Auswirkungen der Radikale auf zelluläre und extrazelluläre Strukturen	4
<u>1.2 Antioxidantien</u>	5
1.2.1 Antioxidativ wirkende Enzymsysteme	5
<u>1.3 Folgeerkrankungen einer Dysbalance von pro- und antioxidativen Substanzen</u>	7
<u>1.4 Natürliche und synthetische Sexualsteroid</u>	7
1.4.1 Vorkommen und Funktionen physiologischer Sexualhormone	7
1.4.2 Hormonale Kontrazeptiva	8
2. FRAGESTELLUNG	9
3. MATERIAL UND METHODEN	10
<u>3.1 Studienaufbau und Auswahl der Probandinnen</u>	10
<u>3.2 Entnahme und Aufbereitung der Proben</u>	10
<u>3.3 Analytik</u>	11
3.3.1 Bestimmung der Glutathionkonzentration im Vollblut	11
3.3.2 Bestimmung der Glutathionperoxidase-Aktivität in Serum, Urin und Speichel	11
3.3.3 Bestimmung der Superoxiddismutase (SOD)-Aktivität im Vollblut	11
3.3.4 Bestimmung der Konzentration von Malondialdehyd (MDA) in Serum, Urin und Speichel	12
3.3.5 Bestimmung von Eisen, Kupfer, Zink, Magnesium und Calcium in Serum, Vollblut, Speichel und Urin	12
3.3.6 Bestimmung der Selenkonzentration in Serum, Vollblut und Urin	13
3.3.7 Bestimmung der Transferrin- und Coeruloplasmin-Konzentration im Serum	13

3.3.8 Bestimmung der Konzentrationen von HDL, LDL, des Cholesterins und der Triglyderide im Serum	14
<u>3.4 Statistik</u>	14
<u>3.5 Fehlerdiskussion</u>	14
4. ERGEBNISSE	16
<u>4.1 Allgemeine Untersuchungsergebnisse der beiden Gruppen</u>	16
<u>4.2. Oxidantien und Antioxidantien</u>	17
4.2.1 Glutathion	17
4.2.2 Glutathionperoxidase	17
4.2.3 Superoxiddismutase	19
4.2.4 Malondialdehyd	20
4.2.5 Eisen	21
4.2.6 Kupfer	23
4.2.7 Zink	25
4.2.8 Magnesium	27
4.2.9 Calcium	29
4.2.10 Selen	31
4.2.11 Transferrin und Coeruloplasmin	33
<u>4.3 Fette</u>	34
5. DISKUSSION	37
6. ZUSAMMENFASSUNG	54
LITERATURVERZEICHNIS	58
DANKSAGUNG	
LEBENS LAUF	
EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG	

Abkürzungsverzeichnis

Apo B	Apoprotein B
BMI	Body mass index
Ca	Calcium
CAPS	Cyclohexylaminopropansulfonsäure
Cu	Kupfer
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DTNB	Dithionitrobenzoesäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EDRF	Endothelien derived growth factor
ESR	Elektronenspinresonanz
Fe	Eisen
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GSH	Glutathion
GSHPx	Glutathionperoxidase
HCl	Salzsäure
HDL	High-density-lipoprotein
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HO ₂ [·]	Hydroxyperoxylradikal
HNE	Hydroxynonenal
INT	Iodphenylnitrophenoltetrazoliumchlorid
KG	Kontrollgruppe
LDL	Low-density-lipoprotein
LH	Luteinisierendes Hormon
MDA	Malondialdehyd
Mg	Magnesium
MW	Mittelwert
NADP ⁺	Nicotinsäureamid-adenin-dinucleotid-phosphat
O ₂	Sauerstoff
O ₂ ^{·-}	Superoxidanion

OH [·]	Hydroxylradikal
PUFAs	Polyunsaturated fatty acids
RO [·]	Alkoxyradikal (R=Lipid)
ROO [·]	Peroxyradikal
Se	Selen
SD	Standardabweichung
SHBG	Sexualhormonbindendes Globulin
SOD	Superoxiddismutase
TBARS	Thiobarbitursäurereaktive Substanzen
Tg	Triglycerid
UG	Untersuchungsgruppe
VLDL	Very-low-density-lipoprotein

1. Einleitung

Der menschliche Organismus ist ein offenes System, das in regem Stoff- und Energieaustausch mit der Umgebung steht. Deshalb können sowohl lebenserhaltende als auch pathologische Prozesse nicht immer nach dem gleichen Muster ablaufen. Trotzdem müssen in diesem System ständig eine gewisse physische und psychische Homöostase aufrechterhalten werden. Das ist eine bemerkenswerte Leistung des Organismus, wenn man bedenkt, wie viele verschiedene innere und äußere Einflüsse auf dieses Gleichgewicht einwirken. Der Körper verfügt dabei über fein abgestimmte Regulationsmechanismen. Das Zusammenwirken von Immun-, Nerven- und Hormonsystem spielt eine große Rolle und ist Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Forschung.

In dieser Arbeit sollen verschiedene Aspekte des empfindlichen antioxidativen Systems, das für die Kontrolle und Beschränkung der oxidativen Belastung wichtig und lebensnotwendig ist, in Zusammenhang mit dem Einfluss synthetischer Östrogene in hormonalen Kontrazeptiva untersucht werden. Die sogenannte “Pille” wird als ein sicheres Verhütungsmittel angesehen und hat heutzutage eine große Akzeptanz in der Bevölkerung erlangt. Aufgrund des häufigen Einsatzes kontrazeptiver Hormone, die verschiedene Partialwirkungen aufweisen, ist diese Thematik von großem wissenschaftlichem und praktischem Interesse.

Im Folgenden wird auf wichtige oxidative Vorgänge und antioxidative Reaktionen genauer eingegangen.

1.1 Oxidativer Stress

Durch elementare Redoxvorgänge entstehen im menschlichen Organismus hochreaktive Sauerstoffderivate (Michaelis, L. 1946), die von Antioxidantien wirksam abgefangen werden. Nehmen prooxidative Substanzen überhand, sind Gewebe deren Angriff ausgesetzt und können durch diesen sogenannten “oxidativen Stress” bleibende Schäden davontragen.

1.1.1 Freie Radikale und Radikalentstehung

Radikale sind Moleküle oder Atome, die ungepaarte Elektronen in ihrer äußeren Atomhülle aufweisen und deshalb sehr instabil und reaktionsfähig sind. Die wichtigsten reaktiven Sauerstoffderivate sind in Tabelle 1.1 in der Reihenfolge abnehmender Reaktivität aufgeführt.

Tab.1.1: Reaktive Sauerstoffspezies

Formel	Bezeichnung
OH^\bullet	Hydroxylradikal
$^1\text{O}_2$	Singuletsauerstoff
HO_2^\bullet	Hydroxyperoxylradikal
$\text{O}_2^{\bullet-}$	Superoxidradikal
RO^\bullet	Alkoxyradikal
ROO^\bullet	Peroxyradikal (R= Lipid)
H_2O_2	Wasserstoffperoxid

Zur Bildung dieser reaktionsfreudigen Substanzen tragen endogene enzymatische Redoxreaktionen und viele exogene Faktoren bei (Tab.1.2). Auch Autooxidationsreaktionen, die nichtenzymatisch in Abhängigkeit vom Sauerstoffpartialdruck ablaufen, fördern die Radikalentstehung. (Siems, W.G. et al. 1998).

Tab.1.2: Reaktive Sauerstoffspezies

endogene Radikalquellen	exogene Radikalquellen
<ul style="list-style-type: none">- mitochondriale Atmungskette- Arachidonsäuremetabolismus (Cyclooxygenasen, Lipoxygenasen)- Purinabbau (Xanthinoxidase)- mikrosomale NAD(P)H-Oxidase und Myeloperoxidase neutrophiler Granulozyten	<ul style="list-style-type: none">- Genußgifte (Nikotin, Alkohol)- Luftverschmutzung (Ozon, Stickoxide)- UV-, Röntgen- und radioaktive Strahlung- Medikamente (Zytostatika und solche, die über das Zytochrom-P 450- System abgebaut werden)

Radikale entstehen in Endothelzellen, neutrophilen Granulozyten und Makrophagen. Durch Entzündungsmediatoren stimulierte Makrophagen und neutrophile Granulozyten haben einen gesteigerten Verbrauch an Sauerstoff und Glucose (Respiratory burst) und können in erheblichem Maße zur Bildung von reaktiven Substanzen führen (Rosen, G.M. et al. 1995). Eine Anreicherung von Schwermetallen, wie Cadmium, Blei oder Quecksilber kann die Radikalbildung zusätzlich begünstigen. Auch Eisen und Kupfer haben als Katalysatoren einen Einfluss auf die Radikalbildung und die nachfolgende Lipidperoxidation (Stohs, S.J. et al. 1995). Eisen ist an der Entstehung von Hydroxylradikalen oder Ferrylverbindungen in der Fenton-Reaktion und von Peroxyl- bzw. Hydroxyperoxylradikalen in der Haber-Weiss-Reaktion beteiligt (Abb.1.1) (Fenton, H. 1894; Haber, F. et al. 1934).

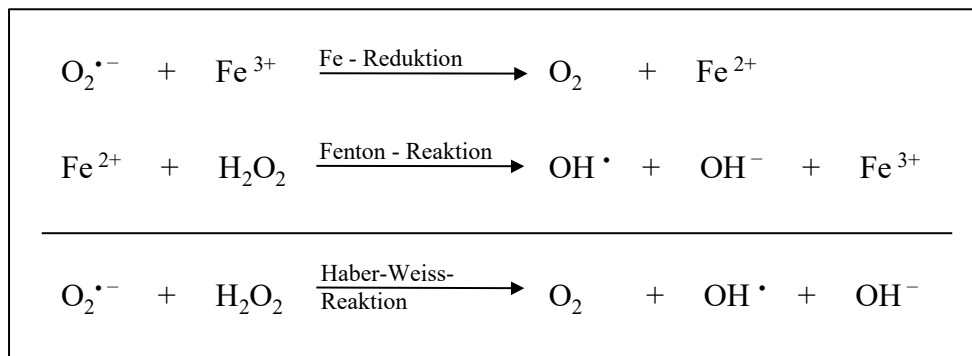


Abb.1.1: Fenton- und Haber-Weiss-Reaktion

In ähnlicher Weise wie Eisen reagieren Kupferionen (Abb.1.2). So kann durch Kupfer die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies und die Peroxidation von Membranlipiden katalysiert werden. Außerdem steigert Kupfer durch Oxidation die Zytotoxizität von Hydrochinonen, die wiederum DNS-Doppelstrangbrüche verursachen kann (Stohs, S.J. et al. 1995).

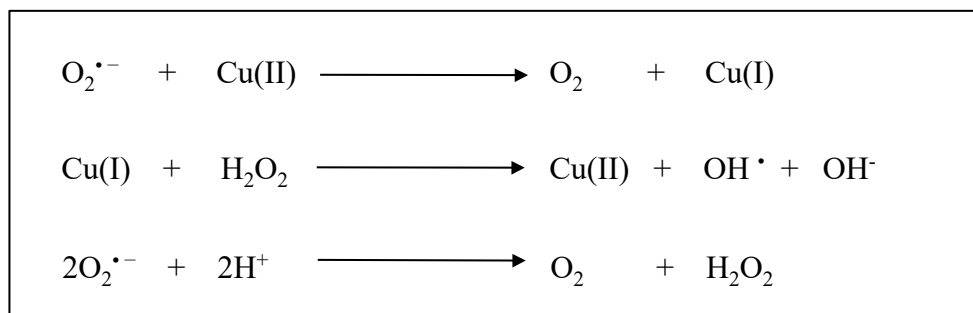


Abb.1.2: Fentonanaloge Reaktion von Kupfer

1.1.2 Auswirkungen der Radikale auf zelluläre und extrazelluläre Strukturen

Freie Radikale haben durchaus auch positive Funktionen im lebenden Organismus. Sie dienen der Abwehr von Mikroorganismen und entarteten Zellen bzw. der Beseitigung von Zelltrümmern oder haben Kontrollfunktionen bei Enzymreaktionen, so zum Beispiel bei der Prostaglandin- und Purinsynthese (Rice-Evans, C.A. 1994).

Kommt es zu einer Verschiebung der Radikal-Homöostase zum Beispiel durch Krankheit oder einseitige Ernährung bzw. Mangelernährung, dann gerät dieses System außer Kontrolle.

Sauerstoffradikale greifen verschiedene Moleküle an und lösen meist Kettenreaktionen aus, die nach einem charakteristischen Muster ablaufen. Es werden die Teilreaktionen Initiierung, Propagation und Termination unterschieden (Abb.1.3).

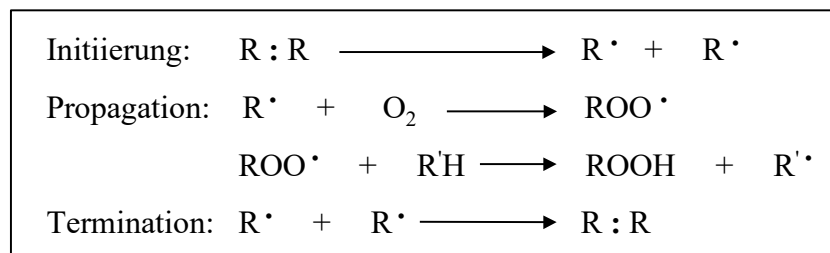


Abb.1.3: Allgemeine Reaktionstypen von Radikalkettenreaktionen

Es können Proteine, Polysaccharide, Nukleinsäuren und Lipide geschädigt werden, indem ihre Struktur zerstört und deren natürliche Funktionen beeinträchtigt werden. An der DNS werden Punktmutationen und Strangbrüche ausgelöst, die bei unzureichender Reparatur Ausgangspunkt für Zelluntergang oder Kanzerogenese sein können. Bevorzugte Angriffspunkte sind ungesättigte Fettsäuren (sog. PUFAs) in Zellmembranen. Durch Lipidperoxidation kommt es zum Zusammenbruch des Membranpotentials und als Folge einer Permeabilitätssteigerung zu einem massiven Calciumeinstrom in die Zelle, der schließlich zum Zelltod führt (Winnefeld, K. 1996).

Die Lipidperoxidation durchläuft dabei typischerweise 3 Phasen. In der Initialphase (Lag-Phase) werden zuerst die endogenen Antioxidantien verbraucht. Während der Propagierungsphase kommt es dann zur raschen Oxidation ungesättigter Fettsäuren zu Hydroperoxiden und weiter zur Bildung toxischer Aldehyde. Die Terminalphase führt, wenn die Substrate (z.B. PUFAs oder Sauerstoff) für den Peroxidationsprozess

verbraucht sind, letztlich zum Abbruch der Radikalreaktion (Esterbauer, H. et al. 1992; Patel, R.P. et al. 1999).

1.2 Antioxidantien

Wirksamen Schutz gegenüber der Radikaleinwirkung auf den menschlichen Organismus bieten antioxidative Systeme, die sich gegenseitig beeinflussen und ergänzen. Es werden enzymatische und nicht-enzymatische Antioxidantien unterschieden. Die nicht-enzymatischen Antioxidantien wiederum lassen sich in zwei Gruppen einteilen. Endogene antioxidative Stoffe werden vom Organismus selbst synthetisiert und können sich der oxidativen Belastung in gewissen Maßen anpassen. Dazu zählen unter anderem Harnsäure, Glutathion und das kupferhaltige Coeruloplasmin. Die exogenen Antioxidantien, die mit der Nahrung aufgenommen werden müssen, sind vor allem essentielle Spurenelemente und Vitamine, wie Selen, Kupfer, Zink, Vitamin E und C, sowie Betacarotin als Vorstufe des Vitamin A (Winnefeld, K. et al. 1995). An dieser Stelle muss betont werden, dass einzelne Antioxidantien keinen merklich protektiven Effekt erbringen, sondern nur in ihrer funktionellen Gesamtheit eine positive Wirkung erzielen.

1.2.1 Antioxidativ wirkende Enzymsysteme

Superoxiddismutase als ein antioxidatives Enzym übt eine wichtige Schutzfunktion aus, indem es Superoxidanionen zu Wasserstoffperoxid umwandelt (Abb.1.4), welches in einer durch die eisenhaltigen Enzyme Katalase und Peroxidase katalysierten Reaktion weiter zu Wasser abgebaut wird. Die Superoxiddismutase kommt intrazellulär entweder im Zytosol oder mitochondrial vor. Sie ist mangan- oder kupferzinkabhängig (MnSOD, CuZnSOD). Eisen, Kupfer und Zink nehmen als enzymatische Kofaktoren sowohl strukturelle und katalytische Funktionen wahr, ohne die keine vollständige Enzymaktivität erreicht werden kann (Hassan, H.M. et al. 1981). Hierbei wird die Bedeutung von Metallionen für antioxidative Prozesse deutlich.

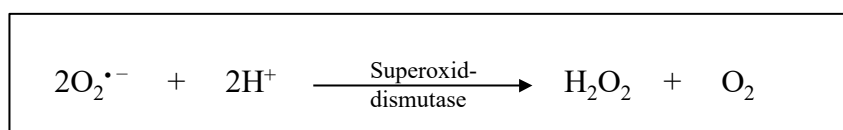


Abb.1.4: Reaktion der Superoxiddismutase

Neben Superoxiddismutase, Katalase und Peroxidase, ist das Glutathionsystem eines der wichtigsten antioxidativ wirkenden Enzymsysteme (Meister, A. 1989). Es besteht aus dem Tripeptid Glutathion, der Glutathionperoxidase und Glutathionreduktase.

Glutathion kommt hauptsächlich intrazellulär in reduzierter Form vor und nur zu einem geringen Teil als Glutathiondisulfid. Es ist aus den Aminosäuren Glutamat, Glycin und Cystein zusammengesetzt. Die Sulfhydrylgruppe der Cysteinylseitenkette ist die reaktivste Gruppe des Glutathion-Moleküls und kann als nukleophiles Zentrum direkt Radikale abfangen. Zusätzlich trägt Glutathion über Glutathion-S-Transferasen zur Entgiftung von toxischen Substanzen und Xenobiotika bei. Es entstehen Glutathion-S-Konjugate, die dann letztendlich als Cystein-Produkte ausgeschieden werden. Ausserdem ist es unter anderem wichtig für die Regenerierung von anderen Antioxidantien, wie Vitamin C und E, sowie für die Aufrechterhaltung der Funktion von Plasmaproteinen und -peptiden. (Siems, W.G. et al. 1996)

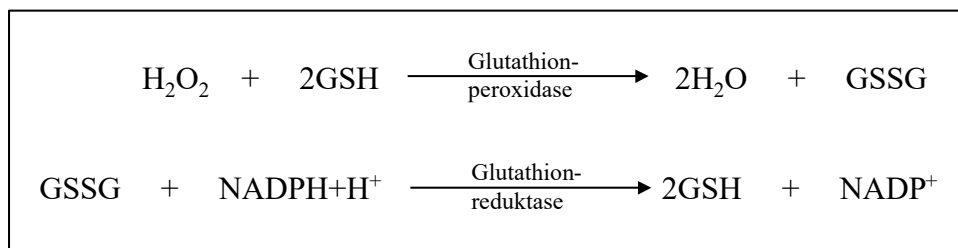


Abb.1.5: Reaktionen der Glutathionperoxidase und -reduktase

Die Glutathionperoxidase besteht aus 4 Untereinheiten, an die jeweils ein Atom Selen gebunden ist. Selen trägt so als ein wesentlicher Bestandteil des Enzyms entscheidend zu dessen Funktion bei. Glutathionperoxidase katalysiert die Reduktion von Wasserstoffperoxid und anderen organischen Hydroperoxiden (Abb.1.5). Dabei wird das reduzierte Glutathion zu Glutathiondisulfid oxidiert, das nachfolgend durch die NADPH+H⁺-abhängige Glutathionreduktase wieder reduziert wird (Abb.1.5).

Das Enzym besitzt in der Leber und den Erythrozyten die höchsten Aktivitäten. Mit seinem zytosolischen und mitochondrialen Vorkommen hat es eine wichtige Schutzfunktion für Plasma- und Mitochondrienmembran. Somit trägt es entscheidend für den Erhalt der Zellfunktionen bei (Flohe, L. 1988).

1.3 Folgeerkrankungen einer Dysbalance von pro- und antioxidativen Substanzen

Zahlreiche Erkrankungen werden mit einem gestörten prooxidativ-antioxidativen Gleichgewicht in Zusammenhang gebracht: Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems, karzinomatöse Entartung, Rheumatoidarthritis, diabetische Folgeerkrankungen, Katarakt, Dermatosen und degenerative Erkrankungen des Zentralnervensystems (Plecko, T. et al. 1998). Es ist aber nicht genau bekannt, ob die Störung in der Radikalhomöostase ursächlich oder als Folge dieser Erkrankungen zu verstehen ist. Dennoch kann den reaktiven Sauerstoffspezies für die meisten Erkrankungen eine wichtige Rolle als pathogenetische Faktoren beigemessen werden.

Viele wissenschaftliche Untersuchungen liegen über den Einfluss von Radikalen auf die Atherogenese vor. Der Oxidation von Low-density-Lipoprotein (LDL) und der Bildung von Schaumzellen kommt dabei eine wichtige Bedeutung zu. Bei einem Überschuss von LDL-Cholesterol kann es begünstigt durch Endothelläsionen zur Anhäufung von Fetten in der Intima der Arterienwand kommen. Hier sind die mehrfach ungesättigten Fettsäuren, die im LDL enthalten sind, bei Mangel an antioxidativen Substanzen dem Angriff der freien Radikale ausgesetzt. Die Lipidperoxidation der Fettsäuren Linol- und Arachidonsäure führt zur Bildung von Malondialdehyd (MDA) und Hydroxynonenal (HNE). Die toxischen Aldehyde MDA und HNE reagieren weiter mit Lysinresten des Apo B des LDL (Hoff, H.F. et al.). Das modifizierte Lipoprotein kann nun nicht mehr vom eigentlichen LDL-, sondern nur noch vom Scavenger-Rezeptor der Makrophagen erkannt werden (Haberland, M.E. et al. 1984). Die Makrophagen nehmen das oxidierte und modifizierte LDL auf und werden zu Schaumzellen, die in arteriosklerotischen Plaques gefunden werden (Rosenfeld, M.E. et al. 1991). Neben der Schaumzellbildung ist das oxidierte LDL in Plättchen-Aggregationsprozesse und Proliferation von glatten Muskelfasern eingebunden (Holvoet, P. et al. 1998).

1.4 Natürliche und synthetische Sexualsteroid

1.4.1 Vorkommen und Funktionen physiologischer Sexualhormone

Wie andere Hormonsysteme des Körpers unterliegen auch die ovariellen Steroidhormone einem kontrollierten Regelmechanismus. Pulsatile Freisetzungen von Gonadotropin aus dem Hypothalamus und der hypophysären Hormone LH (luteinisierendes Hormon) und FSH (follikelstimulierendes Hormon) bestimmen den

Verlauf des weiblichen Zyklus in charakteristischer Weise. Unter dem Einfluss von FSH und LH werden in Granulosa- und Thekazellen Progesteron, Testosteron und Östrogen synthetisiert. Das wichtigste physiologische Östrogen ist 17 β -Östradiol (Abb.1.6). An das Transportprotein SHBG (sexualhormonbindendes Globulin) gebunden, gelangen die lipophilen Hormone zu den Zielorganen. Progesteron und Östrogen, die ergänzend aber auch gegensätzlich wirken, steuern nicht nur weibliche Genital- und Sexualfunktionen, sondern beeinflussen auch Knochen-, Fett- und Proteinstoffwechsel. Außerdem haben natürliche Östrogene aufgrund ihrer Phenolstruktur einen antioxidativen Effekt auf Radikale, verringern die Oxidierbarkeit von LDL und regenerieren das in LDL enthaltene Vitamin E (Kuhl, H. 1994).

1.4.2 Hormonale Kontrazeptiva

Zur Hemmung der Follikelreifung und Ovulation über negative Gonadotropin-Rückkopplung wird Ethinylestradiol (Abb.1.6) als synthetisches Östrogen in Kombination mit einem Gestagen erfolgreich eingesetzt. Einphasenpräparate, bei denen über 21 Tage die Östrogen- und Gestagenkomponente in konstanter Dosierung oral eingenommen werden, bieten einen guten antikonzeptiven Schutz. Die Anwendung hormonaler Kontrazeptiva ist trotz niedrig dosierter Präparate mit Nebenwirkungen verbunden. Das Risiko von thromboembolischen Ereignissen ist erhöht. Unter anderem können Hypertonie, eine negative Beeinflussung des Fettstoffwechsels und Leberfunktionsstörungen auftreten (Oberdisse, E. 1997). Das Auftreten dieser unerwünschten Partialwirkungen wird selten und meistens nur bei prädisponierten Frauen beobachtet.

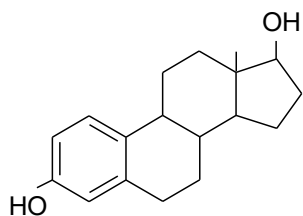
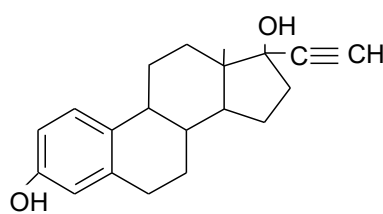
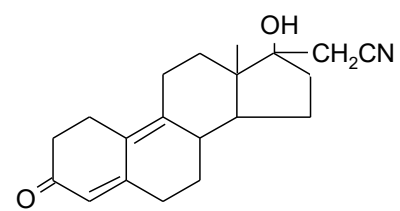


Abb.1.6: 17 β -Östradiol



Ethinylestradiol



Dienogest

2. Fragestellung

Viele fertile Frauen wenden zur sicheren Empfängnisverhütung hormonale Kontrazeptiva an. Zahlreiche Präparate mit niedriger Ethinylestradiolkonzentration und verschiedenen synthetischen Gestagenanteilen sind inzwischen auf dem Markt. Dennoch stellen Nebenwirkungen, die bei Vorliegen von Risikofaktoren gehäuft auftreten, ein Problem dar, dem mit wissenschaftlicher Forschung intensiv nachgegangen wird. In diesem Zusammenhang sind Untersuchungen der positiven oder negativen Auswirkung langzeitiger "Pilleneinnahme" auf den Antioxidantienstatus von grundsätzlicher Bedeutung.

Es wurden zwei Kollektive untersucht, die sich durch die Einnahme eines hormonalen Kontrazeptivum unterschieden. Zur Anwendung kam dabei das Einphasenpräparat Valette[®], welches neben der Ethinylestradiolkomponente das Gestagen Dienogest (Abb.1.6) enthält. Dienogest ist ein 19-Nortestosteronderivat mit antiandrogenen Eigenschaften, fehlender mineralokortikoider und sehr geringer antiöstrogener Partialwirkung. Antioxidative Enzyme, Spurenelemente, Mineralien, Transportproteine und Fette wurden in verschiedenen Körperflüssigkeiten bestimmt. Als spezifisches Maß für eine oxidative Belastung wurde Malondialdehyd herangezogen. Konzentrationen der verschiedenen Parameter in Blut, Speichel und Urin der beiden Gruppen wurden miteinander verglichen. So wurde versucht, eine quantitative Aussage über den Einfluß langjähriger Einnahme kontrazeptiver Hormone auf das oxidative Gleichgewicht zu erhalten.

3. Material und Methoden

3.1 Studienaufbau und Auswahl der Probandinnen

Für die Studie wurden aus 77 gesunden Probandinnen zwei Gruppen gebildet. Eine Kontrollgruppe bestehend aus 26 Probandinnen (19-28 Jahre, Durchschnittsalter 22 Jahre) ohne orale Kontrazeption und eine weitere Gruppe von 51 Frauen (23-49 Jahre, Durchschnittsalter 36 Jahre), die schon über mehrere Zyklen orale Kontrazeptiva eingenommen hatten. Zum Zeitpunkt der Untersuchung wurde von diesen Frauen das gleiche Einphasenpräparat, das unter dem Namen Valette® im Handel ist, angewendet. Es enthält 30µg Ethinylestradiol und 2mg Dienogest als Wirkstoffe. Die Frauen der Kontrollgruppe hatten vor der Untersuchung noch nie hormonale Kontrazeptiva eingenommen bis auf 5, die das jeweilige Hormonpräparat mindestens ein halbes Jahr zuvor abgesetzt hatten. Sie gaben in der Anamnese eine relative Zyklusregelmäßigkeit mit geringen Schwankungen in der Zyklusdauer an.

Hämatologische und Tumorerkrankungen, sowie Diabetes mellitus, Hypertonie, oder schwere Infekte durften bei den Probandinnen nicht vorliegen.

Für die Bestimmung der Laborparameter wurden Blut-, Speichel- und Urinproben entnommen. Außerdem wurden bei allen Probandinnen Blutdruck und Puls gemessen und zur Berechnung des Body mass index (BMI) Größe und Gewicht erfasst.

Um zyklusabhängige Östrogenschwankungen auszugleichen, wurden von den Probandinnen der Kontrollgruppe jeweils innerhalb des 5.-7. Zyklustages und des 14.-18. Zyklustages Proben entnommen und entsprechend aufbereitet. Dagegen wurden von den Probandinnen mit oraler Kontrazeption nur einmal innerhalb der 21-tägigen Einnahmezeit eines Zyklus Proben gewonnen, da konstante Hormonspiegel zu erwarten waren.

3.2 Entnahme und Aufbereitung der Proben

Für die Untersuchung der Laborparameter wurden 2 Monovetten EDTA-Vollblut, 4 Monovetten Serum zu 9 und 4,9 ml, Mittelstrahlurin sowie 5 ml Gesamtspeichel

entnommen. Der Speichel wurde ohne Gebrauch von Zellstoff in einem Röhrchen gesammelt.

Da die Analyse auf Spurenelemente und Antioxidantien nicht sofort nach Entnahme durchgeführt werden konnte, wurde das entnommene Material mit Ausnahme von Speichel und 1 Monovette EDTA-Vollblut zunächst bei 4000 Umdrehungen 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde in spezielle Röhrchen abgefüllt und danach bei -24°C bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren.

3.3 Analytik

3.3.1 Bestimmung der Glutathionkonzentration im Vollblut

Zunächst wurde oxidiertes Glutathion mit Hilfe der Glutathionreduktase und NADPH reduziert. Das Gesamtglutathion wurde mit Dithionitrobenzoesäure (DTNB, Ellmans Reagenz zum Nachweis von Thiolen, (Ellmann, G.L. 1959)) umgesetzt, mit Phosphatpuffer 1:21 verdünnt und anschließend photometrisch ($\lambda=412\text{ nm}$) bestimmt.

3.3.2 Bestimmung der Glutathionperoxidase-Aktivität in Serum, Urin und Speichel

Glutathionperoxidase bewirkt einen Abbau von Wasserstoffperoxid und organischen Hydroperoxiden. Dabei dient Glutathion, das zu Glutathiondisulfid umgesetzt wird, als reduzierende Substanz. Anschließend kann Glutathiondisulfid durch die NADPH-abhängige Glutathionreduktase wieder in Glutathion überführt werden. Paglia und Valentine haben diese Reaktionsfolge zu einem Analyseverfahren entwickelt (Paglia, D.E. et al. 1967), welches zur quantitativen Bestimmung der Aktivität der Glutathionperoxidase angewandt wurde.

3.3.3 Bestimmung der Superoxiddismutase (SOD)-Aktivität im Vollblut

Das Probenmaterial wurde mit Phosphatpuffer ($\text{pH}=7,0$) im Verhältnis 1:50 und Zugabe von CAPS-Puffer (Cyclohexylaminopropansulfonsäure, $\text{pH}=10,2$) verdünnt. Durch Xanthin und Xanthinoxidase erzeugte Sauerstoffradikale reagieren mit Jodphenylnitrophenoltetrazoliumchlorid (INT) zu einem roten Formazanfarbstoff. Der Farbstoff wurde einmal mit und einmal ohne SOD-haltige Probe photometrisch ($\lambda=505\text{ nm}$) vermessen. Bestimmt wurde die prozentuale Hemmung dieser Farbstoffreaktion.

Bei Messungen im Erythrozyten bezog man die Aktivität der Superoxiddismutase auf μmol Hämoglobin.

3.3.4 Bestimmung der Konzentration von Malondialdehyd (MDA) in Serum, Urin und Speichel

Zuerst wurden die Proteine des Probenmaterials mit 10%iger Trichloressigsäure ausgefällt. Zur quantitativen Bestimmung von MDA als thiobarbitursäurereaktive Substanz (TBARS) wurde den Proben 0,8%ige Thiobarbitursäure zugesetzt. Dabei musste eine Reaktionszeit von 25 Minuten bei 95°C genau eingehalten werden, um Konzentrationsschwankungen zu vermeiden. Die daraus entstandene fluoreszierende Verbindung wurde mittels eines n-Butanol-Salzsäuregemisches (HCl 32%ig) extrahiert und anschließend am Fluorometer LS 30 (Perkin Elmer) bei den Wellenlängen $\lambda_{\text{ex}}=515$ nm und $\lambda_{\text{em}}=553$ nm vermessen. Die Konzentrationen konnten mit MDA-Referenzlösungen ermittelt werden.

3.3.5 Bestimmung von Eisen, Kupfer, Zink, Magnesium und Calcium in Serum, Vollblut, Speichel und Urin

Die Bestimmung erfolgte mit der Flammen-Atomabsorptionsspektroskopie (AAS). Aufgrund der relativ hohen Nachweisgrenzen für die Bestimmung von Eisen, Kupfer und Zink im Vergleich zu den niedrigen Konzentrationen in biologischen Flüssigkeiten konnten die Proben nicht stark verdünnt werden, ausgenommen die Speichelproben für die Bestimmung der Zinkkonzentration (Verdünnung 1:11). Im Gegensatz war bei den Elementen Magnesium und Calcium wegen der hohen Konzentrationen ein Verdünnungsverhältnis von 1:11 für die Serumproben und von 1:21 für die Urinproben möglich. Durch den hohen Eiweißgehalt im Serum wäre das Brenner-Zerstäuber-System bei geringer Verdünnung der Proben schnell verstopft. Eine störungsfreie Analyse sehr vieler Proben ohne Systemreinigung erreichte man durch Enteiweißung des Probenmaterials nach vorangegangener Trennung der Metall-Eiweiß-Bindung durch Zugabe von 32%iger Salzsäure und 10% bzw. 5%iger Trichloressigsäure. Zur Bestimmung der Eisen- und Zinkkonzentrationen aus den Urinproben konnte wegen der geringen Proteinmengen auf eine Vorbehandlung und gleichzeitige Verdünnung mit Trichloressigsäure verzichtet werden.

Die drei Elemente Eisen, Kupfer und Zink wurden analog mittels einer sequentiellen Multielementmethode bestimmt. Bei der Bestimmung von Magnesium waren trotz Verdünnung die Absorptionswerte so hoch, dass der lineare Messbereich verlassen wurde. Um wieder in den linearen Messbereich zu gelangen, wurde der Brennerkopf des Spektrometers um 90° gedreht. So konnte aufgrund der kleineren Schichtdicke der Flamme im Strahlengang nur eine wesentlich geringere Absorptionsintensität am Empfänger registriert werden. Bei der Calciumbestimmung blieb der Brennerkopf in der optimalen Grundstellung.

3.3.6 Bestimmung der Selenkonzentration in Serum, Vollblut und Urin

Die Bestimmung im Serum erfolgte mit der Hydrid-Absorptionsspektroskopie. Das Probenmaterial wurde zunächst mit Salpetersäure (65%ig), Perchlorsäure (70-72%ig) und Schwefelsäure (96%ig) im Verhältnis 4:1:1 demineralisiert. Danach wurde durch Zugabe von 8%iger Salzsäure bei 90°C eine Reduktion des sechswertigen zu vierwertigem Selen durchgeführt. Mittels Natriumborhydrid-Natriumhydroxid-Lösung reagierte Selenit nun zu leichtflüchtigem Selenwasserstoff, der über ein Transportmedium (Argon) in den Probenraum überführt wurde. Bei 780°C erfolgte dann eine Spaltung des Selenwasserstoff in Selen und Wasserstoff. In dieser Form konnte die Selenkonzentration durch Atomabsorption ermittelt werden. Wie bei den oben genannten Verfahren wurden Leerproben und Standards zur Bestimmung der Probenkonzentrationen mitgeführt.

3.3.7 Bestimmung der Transferrin- und Coeruloplasmin-Konzentration im Serum

Die Transferrin- und Coeruloplasmin-Konzentrationen im Serum wurden nephelometrisch gemessen (Sternberg, J.C. 1977). Hierbei machte man sich nicht die Lichtabsorption durch die in der Küvette befindlichen Substanzen zu nutze, sondern die Streuung. So konnte über die Extinktion auf die Konzentration der Proteine geschlossen werden. Gemäß Dati (Dati, F. et al. 1992) wurden zur Analyse spezielle Antikörper von Beckmann eingesetzt.

3.3.8 Bestimmung der Konzentrationen von HDL, LDL, des Cholesterins und der Triglyderide im Serum

Gesamt-, HDL-Cholesterol, sowie die Triglyceride wurden mit der Oxidase-Peroxidase-Technik nach Roeschlau, Trinder und Bucculo enzymatisch (Trinder, P. 1969; Bucculo, G. et al. 1973; Roeschlau, P. et al. 1974) bestimmt. Verwendet wurden hierbei kommerziell erhältliche Analyse-Sets von Beckmann. Serum-LDL wurde ausgefällt und danach mittels Elektrophorese quantitativ bestimmt.

3.4 Statistik

Für die statistische Überprüfung der Parameterkonzentrationen auf signifikante Unterschiede innerhalb der Kontrollgruppe (1. und 2. Wert jeweils innerhalb des 5.-7. und des 14.-18. Zyklustages) und zwischen den beiden Gruppen wurde der Student-t-Test für unabhängige Stichproben oder der Welch-Test eingesetzt. Wobei als Voraussetzungen Normalverteilung für beide Tests und zusätzlich gleiche Streuung der Werte innerhalb einer Gruppe für den Student-t-Test erfüllt sein mussten. Sowohl die Voraussetzungen als auch die Tests selbst wurden mit Hilfe des Statistikprogrammes SPSS durchgeführt. Die Normalverteilung und die Streuung der Daten wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest bzw. mit dem Levene-Test überprüft. War gleiche Streuung als eine der beiden Voraussetzung nicht gegeben, wurde der Welch-Test angewendet. Beide Tests wurden in ihrer Aussagekraft als gleichwertig eingeschätzt. Als Signifikanzniveau unter zweiseitiger Fragestellung des Testverfahrens wurde $\alpha=0,05$ gewählt, also das 95%-Konfidenzintervall, so dass für $p \geq 0,05$ keine statistische Signifikanz, für $p < 0,05$ dagegen signifikante Unterschiede der entsprechenden Werte nachgewiesen werden konnten. Hochsignifikante Unterschiede wurden mit $p < 0,01$ definiert. Alle Werte wurden im Folgenden als Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben.

3.5 Fehlerdiskussion

Bei der Durchführung und Planung der Studie wurde versucht, grobe, zufällige oder systematische Fehler möglichst gering zu halten.

Bei der Materialgewinnung wurde auf gleiche Entnahmebedingungen geachtet. Blut wurde an der liegenden Probandin aus der Kubitalvene entnommen und der Gesamtspeichel ohne Stimulation gesammelt.

Die Proben wurden nach Entnahme sofort aufbereitet und analysiert bzw. bis zur Analyse tiefgefroren und nach dem Auftauen schnellst möglich weiterverarbeitet. So konnte eine Verschiebung der Werte durch eventuelle Störfaktoren, wie thermische oder chemische Instabilität verhindert werden.

Im Labor wurden systematische und zufällige Fehler durch Richtigkeits- und Präzisionskontrolle überprüft. Bei jedem Ansatz wurden entsprechende Kontrollen mitgeführt. Für die meisten Parameter lagen Ringversuchszertifikate vor.

Fehler in der statistischen Auswertung durch zu große Streuung der Werte konnten durch den relativ großen Stichprobenumfang und durch Ausschlußkriterien bei der Probandinnenauswahl vermindert werden.

4. Ergebnisse

4.1 Allgemeine Untersuchungsergebnisse der beiden Gruppen

Beide Gruppen, die Kontrollgruppe ohne und die Untersuchungsgruppe mit oraler Kontrazeption, unterschieden sich hinsichtlich des Body-Mass-Index (BMI) nicht signifikant. Der Mittelwert des BMI betrug bei der Kontrollgruppe $22,0 \pm 3,1$ und bei der Untersuchungsgruppe $22,7 \pm 2,3$. Blutdruck und Puls lagen innerhalb des physiologischen Referenzbereichs. Der Blutdruck wurde im Durchschnitt mit 115/75 (Kontrollgruppe) und mit 124/81 (Untersuchungsgruppe) gemessen, der Puls betrug 76 bzw. 87.

Weiterhin ergab die Befragung der Probandinnen der Kontrollgruppe eine Zyklusdauer von durchschnittlich 31 Tagen. Die Mittelwerte der Sexualhormone sind in Tabelle 4.1 aufgeführt.

Tab.4.1: Mittelwerte und Standardabweichung der Sexualhormone der Kontrollgruppe

	LH IU/l	FSH IU/l	Progesteron nmol/l	Estradiol pmol/l	SHBG nmol/l	freies Testosteron pmol/l
	5.-7. Zyklustag					
MW	5,49	5,83	1,84	149,11	49,26	4,80
SD	1,98	1,52	0,54	76,32	18,95	1,31
	14.-18. Zyklustag					
MW	18,62	6,42	6,88	402,17	51,82	5,43
SD	11,86	3,10	9,23	231,22	19,51	2,19

Der Mittelwert der Einnahmezyklen der Probandinnen mit oraler Kontrazeption lag bei 59,6 Zyklen. Als mittlere Konzentration des sexualhormonbindenden Globulins (SHBG) im Serum wurde $257,5 \pm 88,2$ nmol/l errechnet.

Aus der Kontrollgruppe gab eine der Frauen Nikotingebrauch an, aus der Untersuchungsgruppe dagegen 14 Probandinnen, von denen ca. 10 mehrere Zigaretten pro Tag rauchten. Auf die nachfolgenden Laborparameter mit Ausnahme von Malondialdehyd im Serum und Zink im Vollblut hatte Nikotin hinsichtlich der statistischen Signifikanzen keinen Einfluss. Deshalb wurden die Raucherinnen in die Auswertung miteinbezogen. Auf die Unterschiede zwischen Raucher- und Nichtraucherinnen wird bei Malondialdehyd (Serum) und Zink (Vollblut) gesondert eingegangen.

4.2. Oxidantien und Antioxidantien

Die Laborwerte der Frauen ohne orale Kontrazeption, die sowohl zu Beginn des Menstruationszyklus als auch in Zyklusmitte aus den Proben ermittelt wurden, unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Deshalb wurden die Mittelwerte aus den zu beiden Zykluszeitpunkten ermittelten Laborparametern für den Vergleich mit der Untersuchungsgruppe herangezogen. Dasselbe galt auch für die Fettwerte.

4.2.1 Glutathion

Die Glutathionkonzentration im Vollblut betrug für die Kontrollgruppe (KG) $80,38 \pm 26,78 \mu\text{mol}/\text{mmolHb}$. Zur Untersuchungsgruppe (UG) mit $76,63 \pm 31,19 \mu\text{mol}/\text{mmolHb}$ gab es keinen signifikanten Unterschied. In Abbildung 4.1, wie auch in den folgenden Abbildungen, sind die statistischen Verhältnisse als Boxplots graphisch dargestellt (Box begrenzt durch die Quantile 0,25 und 0,75; 0,5 Perzentil = Median).

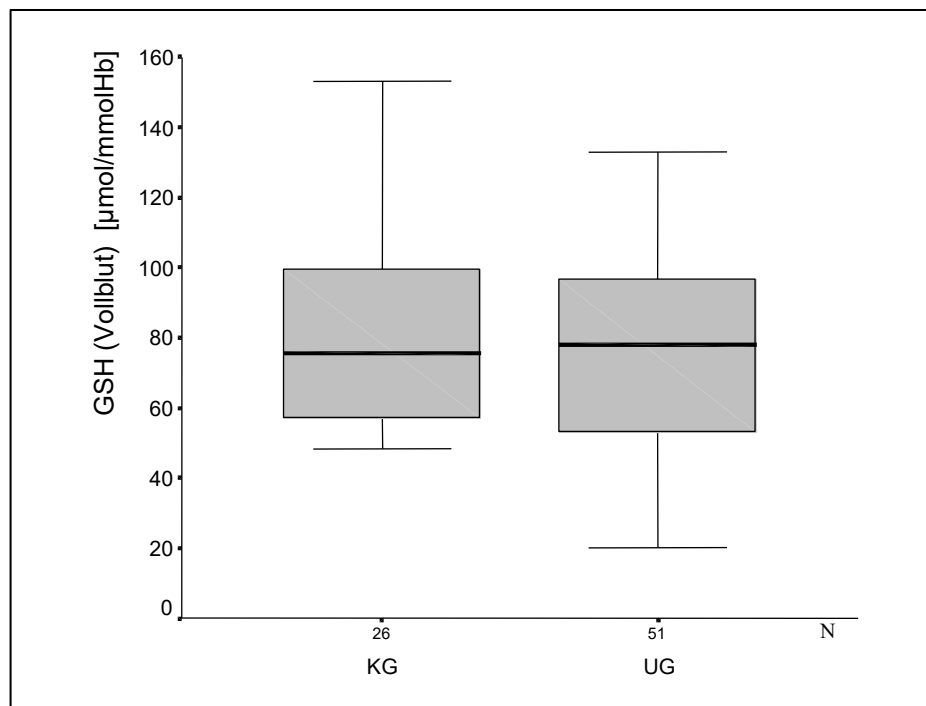


Abb.4.1: Boxplots der Glutathionkonzentration (GSH) im Vollblut; KG = Kontrollgruppe, UG= Untersuchungsgruppe, N=Anzahl der Probandinnen pro Gruppe

4.2.2 Glutathionperoxidase

Der Unterschied der Glutathionperoxidase-Aktivität der beiden Gruppen (KG: $160,42 \pm 20,94 \text{ U/l}$; UG: $141,88 \pm 29,94 \text{ U/l}$) im Serum war hochsignifikant ($p < 0,01$). Im Urin betrug diese $16,76 \pm 6,05 \text{ U/l}$ (KG) und war signifikant größer als $13,12 \pm 6,36 \text{ U/l}$

(UG). Die Aktivität des Enzyms im Speichel dagegen ergab bei Mittelwerten von $15,95 \pm 4,20$ U/l für die Kontrolle und $19,11 \pm 9,06$ für die Untersuchungsgruppe keinen signifikanten Unterschied (s.Abb.4.2-4).

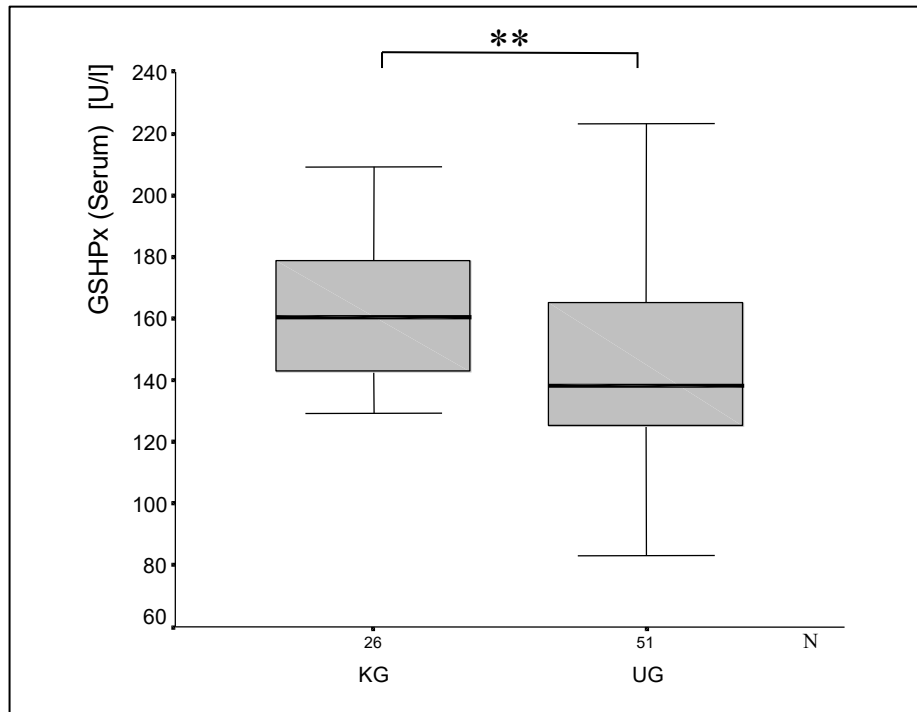


Abb.4.2: Boxplots der Glutathionperoxidase-Aktivität (GSHPx) im Serum; ** = $p < 0,01$

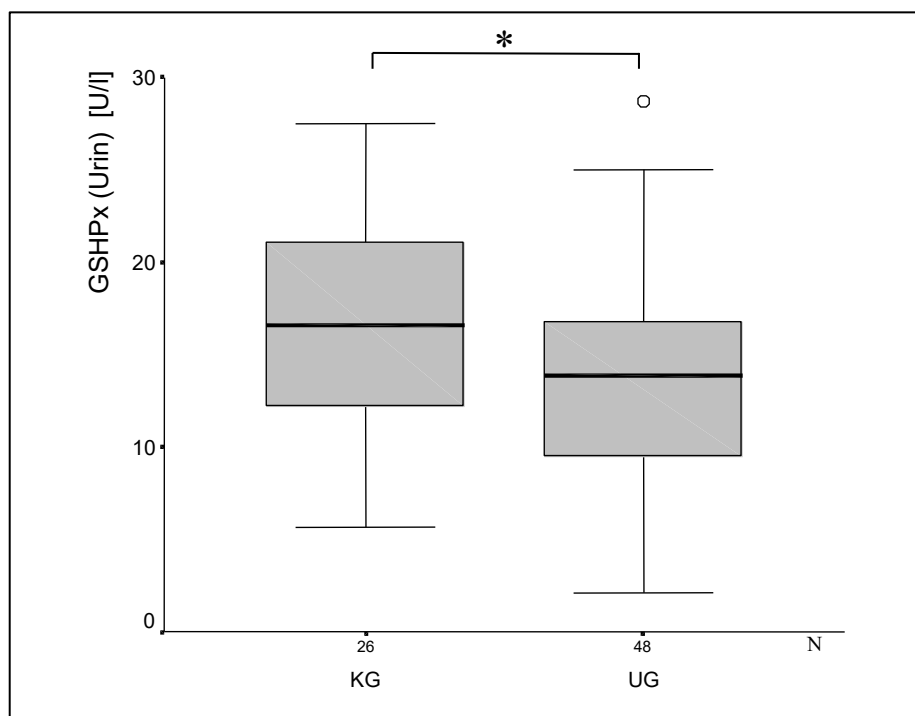


Abb.4.3: Boxplots der Glutathionperoxidase-Aktivität (GSHPx) im Urin; * = $p < 0,05$; o = Ausreißerwert (lag außerhalb der Spannweite)

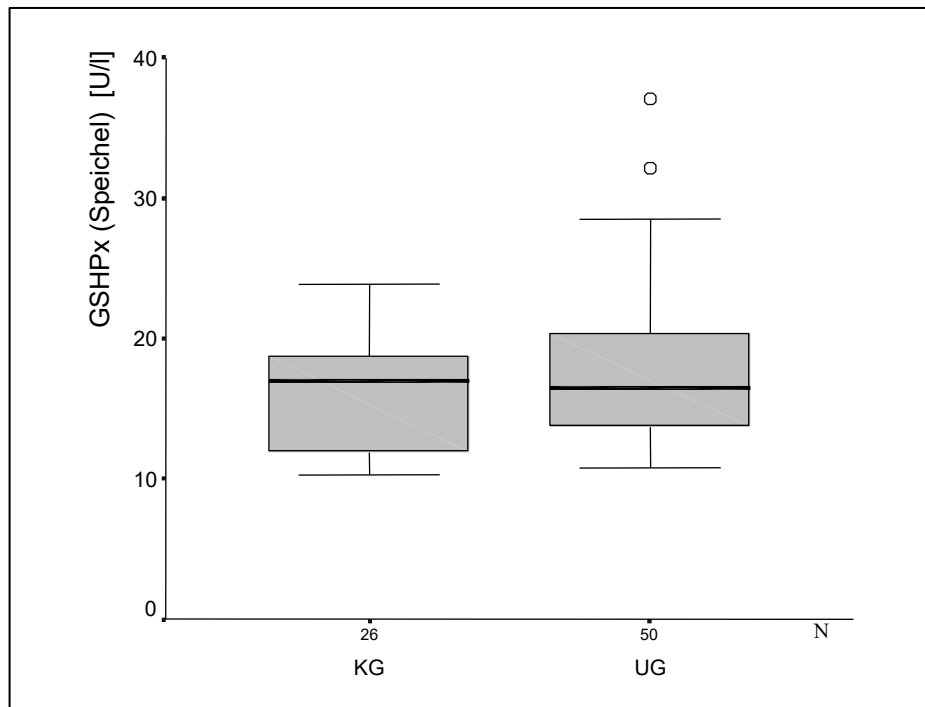


Abb.4.4: Boxplots der GSHPx-Aktivität im Speichel; o = Ausreißerwerte

4.2.3 Superoxiddismutase

Die Aktivität der Superoxiddismutase im Vollblut war mit $11,63 \pm 2,12$ U/ μ molHb (KG) deutlich signifikant größer als $9,77 \pm 2,44$ U/ μ molHb (UG; Boxplots s.Abb.4.5).

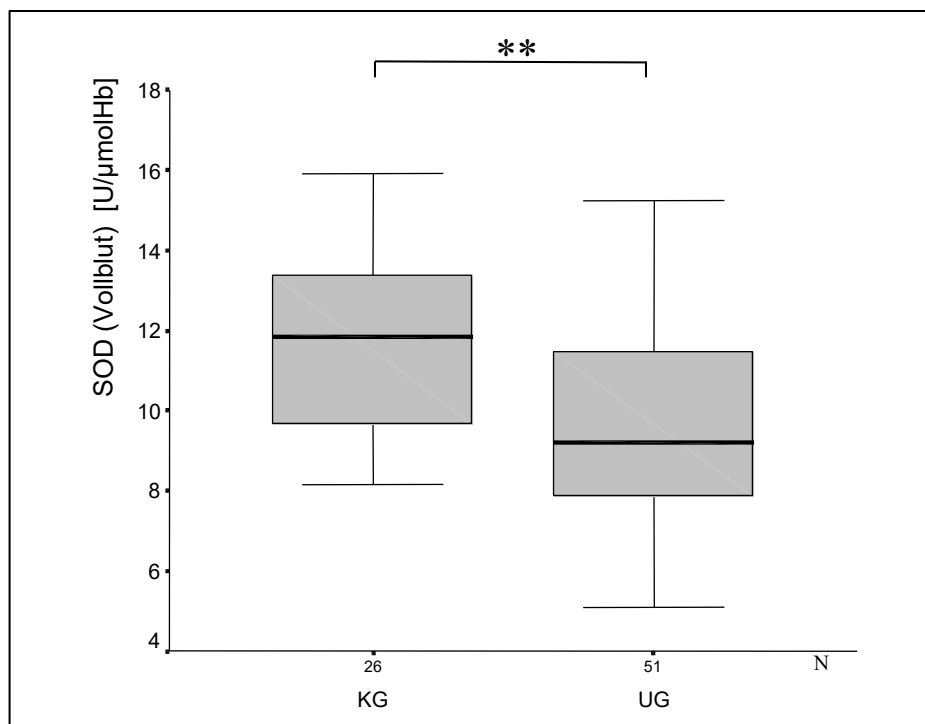


Abb.4.5: Aktivität der Superoxiddismutase im Vollblut; ** = $p < 0,01$

4.2.4 Malondialdehyd

Die Konzentration von Malondialdehyd (MDA) im Serum betrug $1,89 \pm 0,88 \mu\text{mol/l}$ in der Kontrollgruppe. Es bestand kein signifikanter Unterschied zur Untersuchungsgruppe mit $2,21 \pm 0,44 \mu\text{mol/l}$. Im Urin wurden Konzentrationen von $1,21 \pm 0,63 \mu\text{mol/l}$ (KG) mit hoher Signifikanz zu $1,84 \pm 1,41 \mu\text{mol/l}$ (UG) gemessen. Die Werte von MDA im Speichel mit $0,07 \pm 0,05 \mu\text{mol/l}$ (KG) und $0,11 \pm 0,37 \mu\text{mol/l}$ (UG) waren nicht signifikant unterschiedlich (s.Abb.4.6-8). Der Vergleich nur zwischen den Nichtrauchern beider Gruppen ergab für Malondialdehyd im Serum dagegen einen hochsignifikanten Unterschied mit $p < 0,01$ (KG: $1,77 \pm 0,68 \mu\text{mol/l}$; UG: $2,24 \pm 0,45 \mu\text{mol/l}$). Dagegen konnten die Raucherinnen nicht gesondert miteinander verglichen werden, da keine ausreichenden Fallzahlen vorlagen.

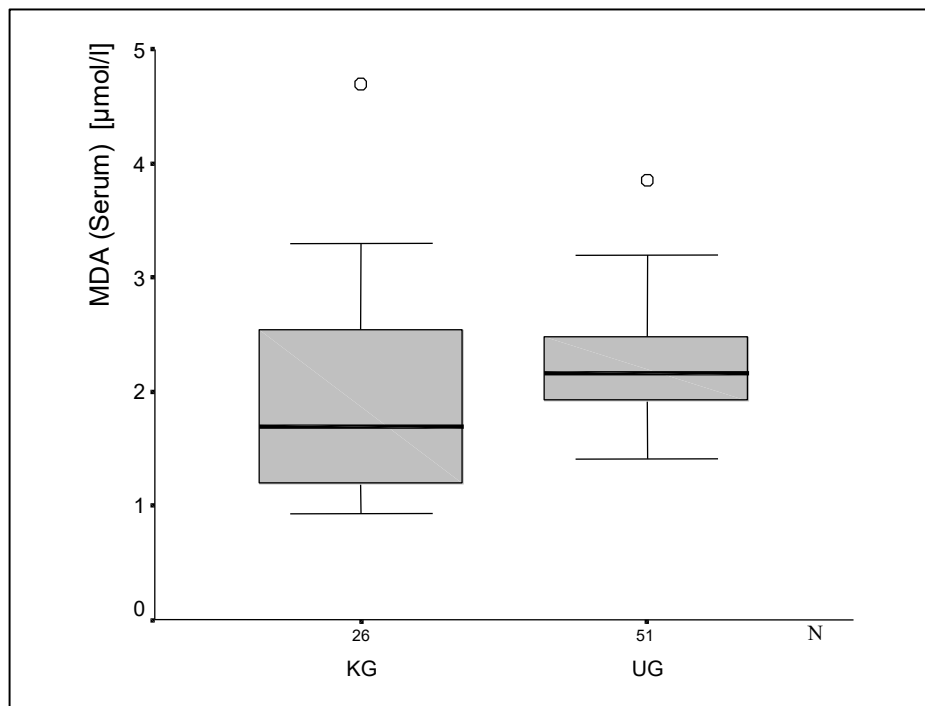


Abb.4.6: Boxplots von Malondialdehyd (MDA) im Serum; o = Ausreißerwerte

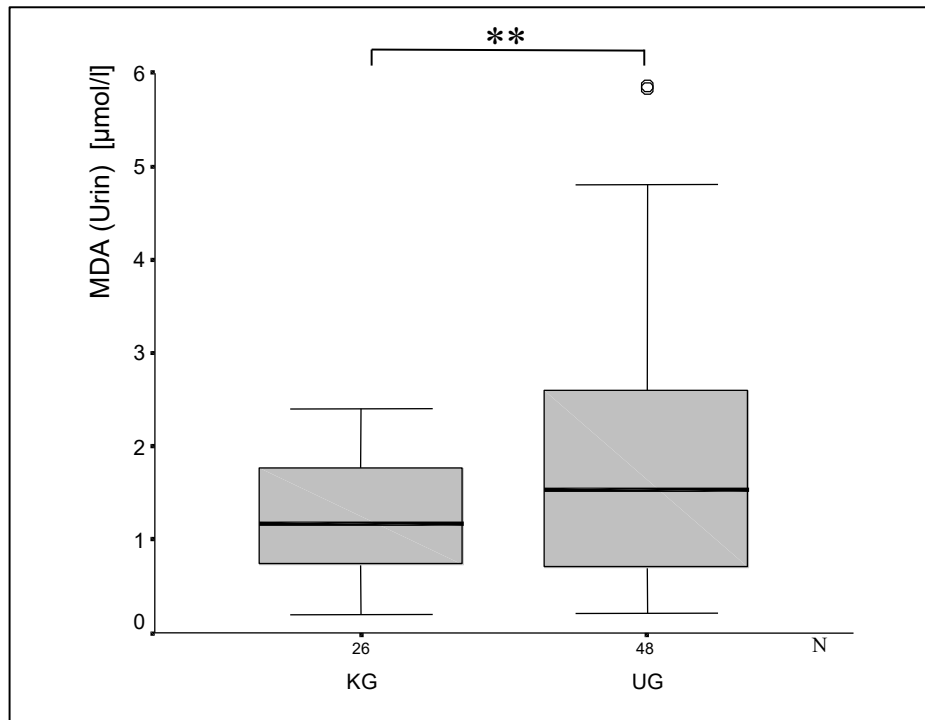


Abb.4.7: Boxplots von Malondialdehyd (MDA) im Urin; ** = $p < 0,01$; o = Ausreißer

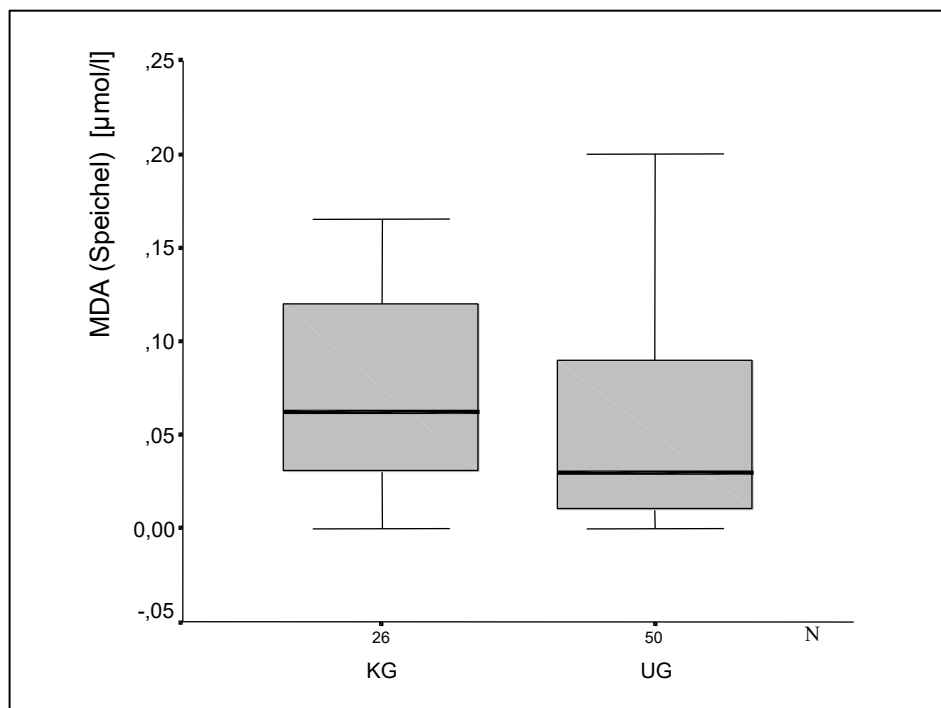


Abb.4.8: Boxplots von Malondialdehyd (MDA) im Speichel

4.2.5 Eisen

Die Unterschiede der Eisenkonzentrationen im Vollblut und Serum waren signifikant. Im Vollblut betrugen sie $75,78 \pm 8,51 \mu\text{mol/l}$ für die Kontroll- und $69,69 \pm 12,66 \mu\text{mol/l}$

für die Untersuchungsgruppe, im Serum $15,44 \pm 3,54 \mu\text{mol/l}$ (KG) und $18,49 \pm 5,88 \mu\text{mol/l}$ (UG). Die Konzentrationen im Urin zeigten keine signifikanten Unterschiede (KG: $0,44 \pm 0,43 \mu\text{mol/l}$; UG: $0,47 \pm 0,53 \mu\text{mol/l}$; s.Abb.4.9-11).

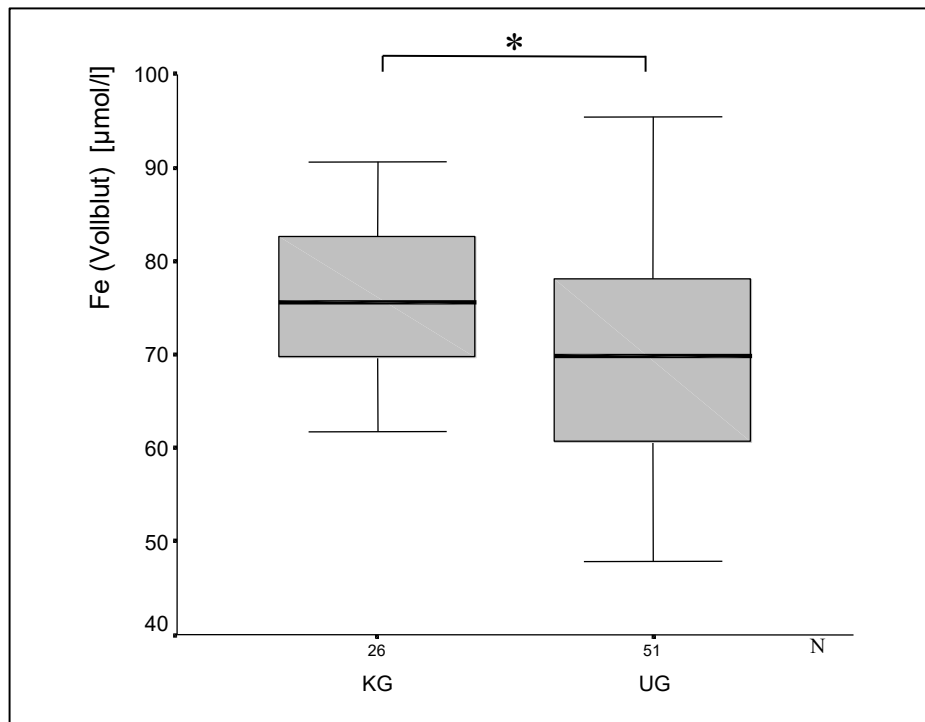


Abb.4.9: Boxplots von Eisen (Fe) im Vollblut; * = $p < 0,05$

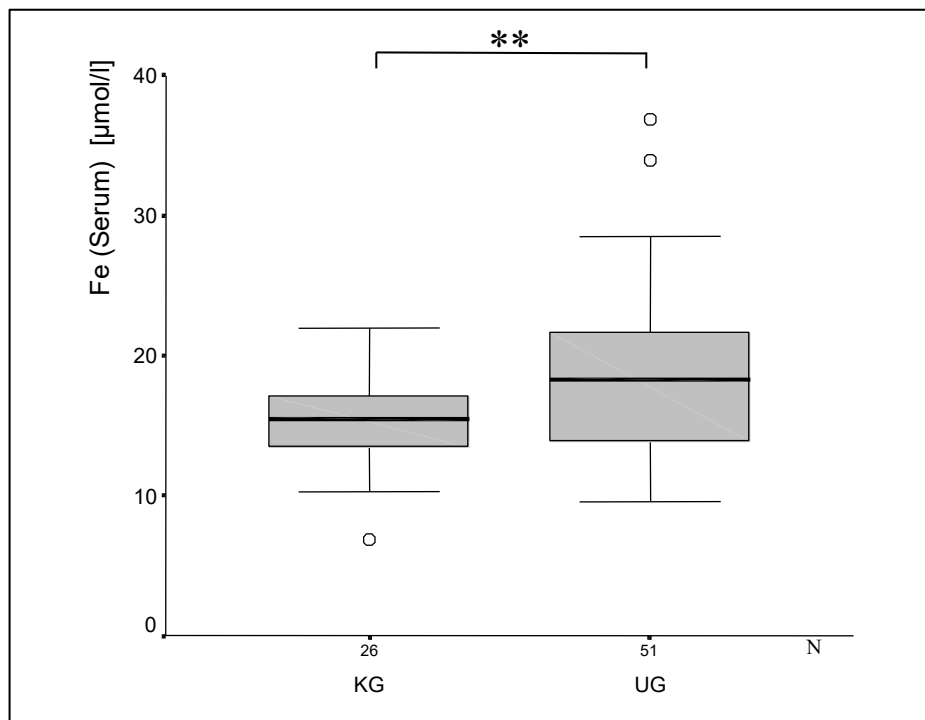


Abb.4.10: Boxplots von Eisen (Fe) im Serum; ** = $p < 0,01$; o = Ausreißerwerte

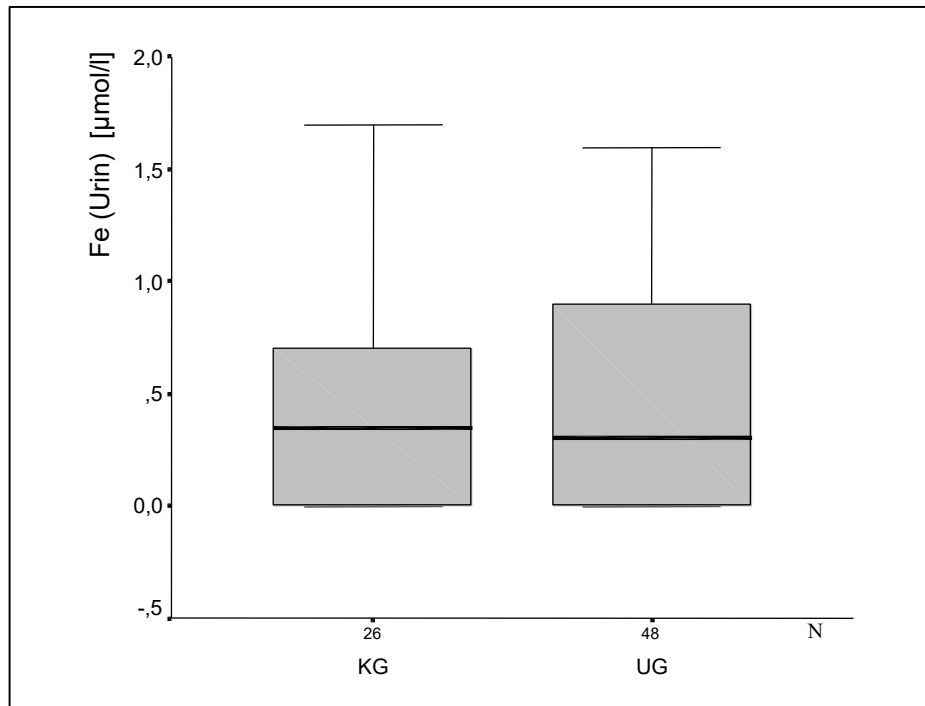


Abb.4.11: Boxplots von Eisen (Fe) im Urin

4.2.6 Kupfer

Die Bestimmung der Kupferkonzentration im Vollblut ergab $13,65 \pm 1,66 \mu\text{mol/l}$ (Kontrollgruppe) und unterschied sich mit hoher Signifikanz ($p < 0,01$) von $23,17 \pm 3,51 \mu\text{mol/l}$ (Untersuchungsgruppe). Auch die Konzentration im Serum war mit $16,13 \pm 2,78 \mu\text{mol/l}$ (KG) deutlich signifikant ($p < 0,01$) kleiner als $32,68 \pm 5,74 \mu\text{mol/l}$ (UG; s.Abb.4.12,13).

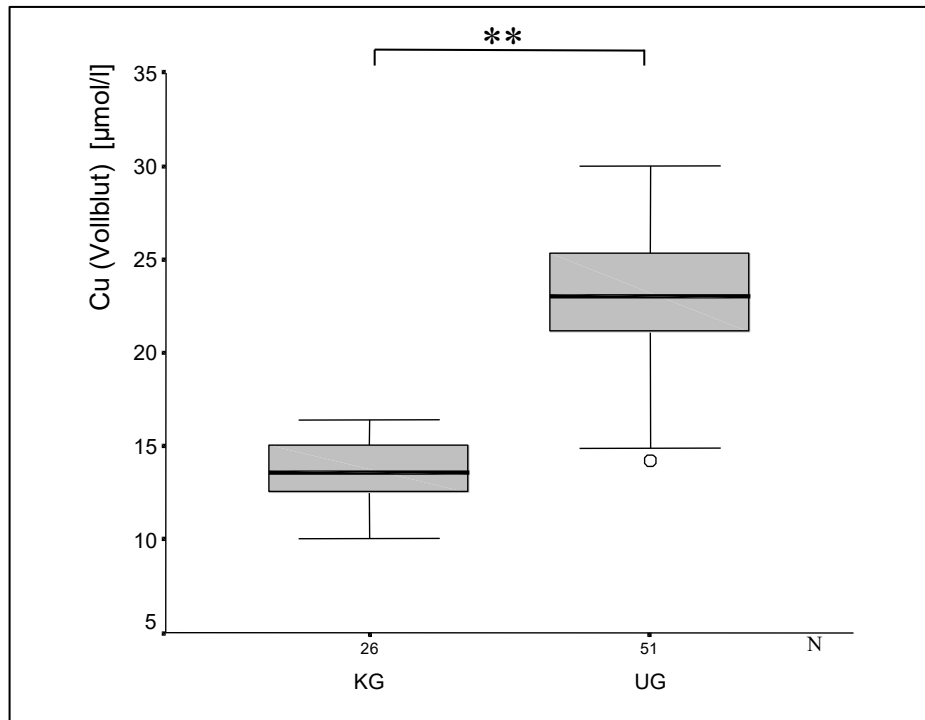


Abb.4.12: Boxplots von Kupfer (Cu) im Vollblut; ** = $p < 0,01$; o = Ausreißerwert

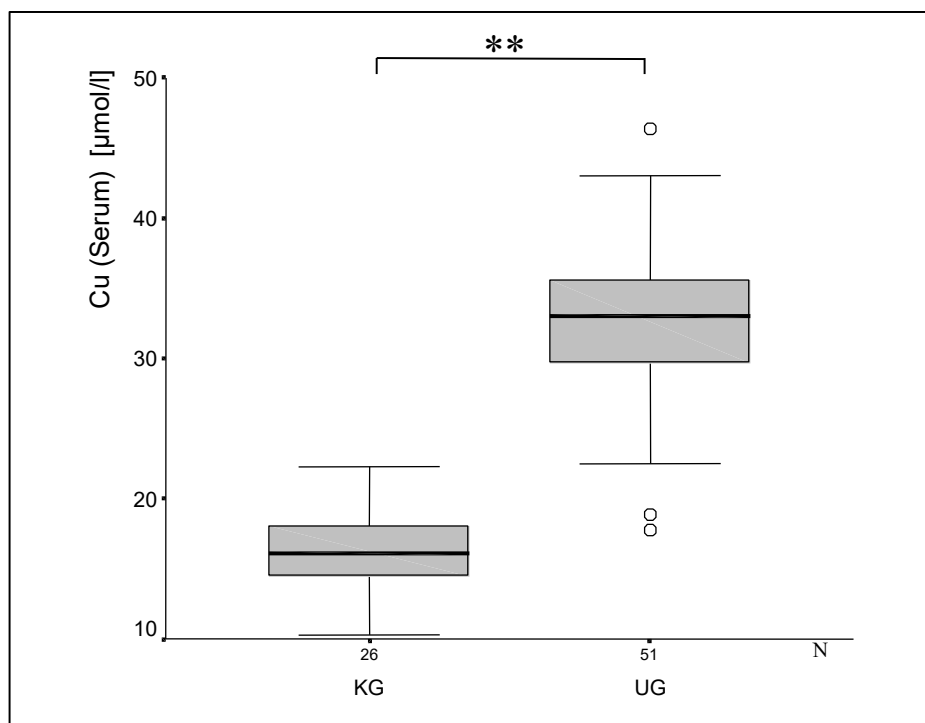


Abb.4.13: Boxplots von Kupfer (Cu) im Serum; ** = $p < 0,01$; o = Ausreißerwerte

4.2.7 Zink

Für Zink im Vollblut mit $83,73 \pm 10,76 \mu\text{mol/l}$ ohne orale Kontrazeption (KG) bestand kein signifikanter Unterschied zu $88,52 \pm 11,43 \mu\text{mol/l}$ bei oraler Kontrazeption (UG). Im Serum war $13,16 \pm 2,38 \mu\text{mol/l}$ (KG) signifikant größer als $10,83 \pm 1,44 \mu\text{mol/l}$ (UG). Die Konzentrationen im Urin (KG: $4,66 \pm 4,42 \mu\text{mol/l}$ bzw. UG: $3,17 \pm 2,43 \mu\text{mol/l}$) und im Speichel (KG: $0,86 \pm 1,23 \mu\text{mol/l}$ bzw. UG: $0,37 \pm 0,34 \mu\text{mol/l}$) waren nicht signifikant unterschiedlich (s. Abb. 4.14-17). Die Zinkkonzentrationen im Vollblut der nichtrauchenden Probandinnen ohne orale Kontrazeption ($83,13 \pm 10,54 \mu\text{mol/l}$) waren signifikant kleiner ($p < 0,05$) als die der nichtrauchenden mit oraler Kontrazeption ($89,52 \pm 11,59 \mu\text{mol/l}$).

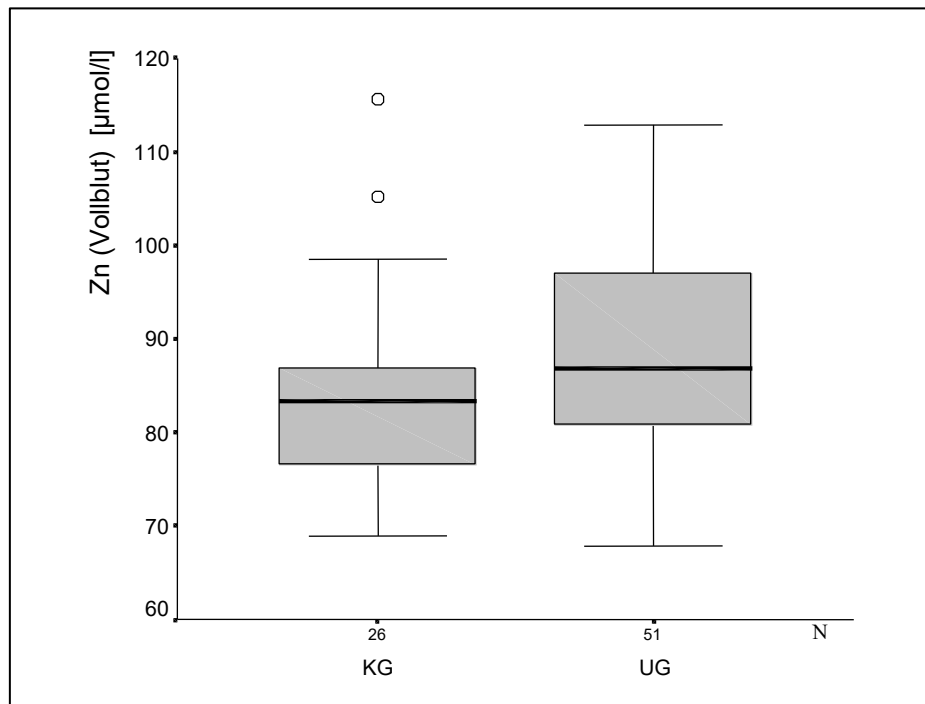


Abb.4.14: Boxplots von Zink im Vollblut; o = Ausreißerwerte

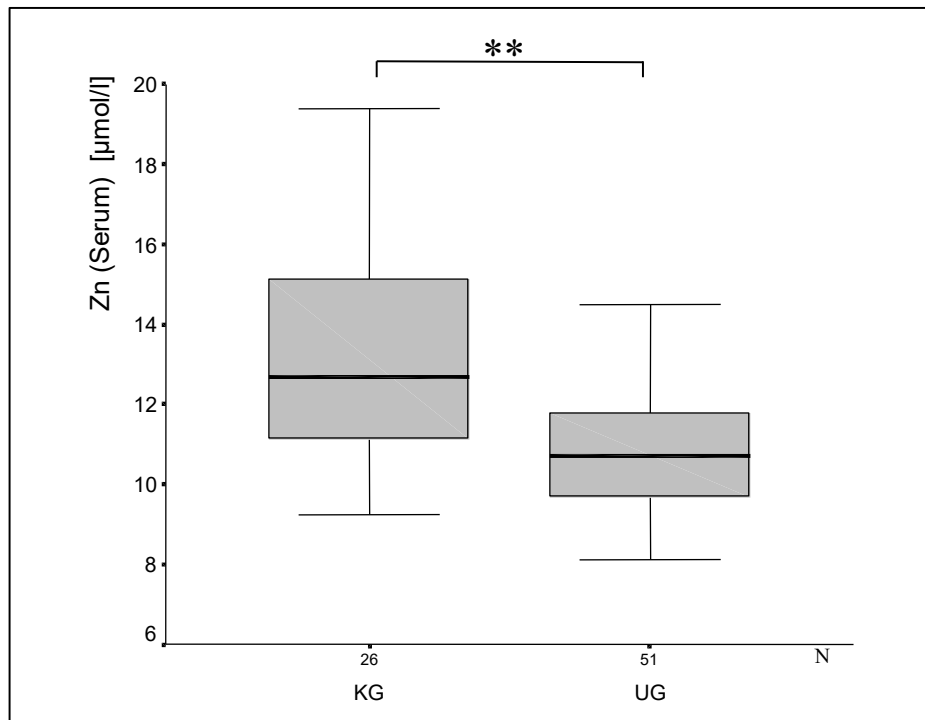


Abb.4.15: Boxplots von Zink (Zn) im Serum; ** = $p < 0,01$

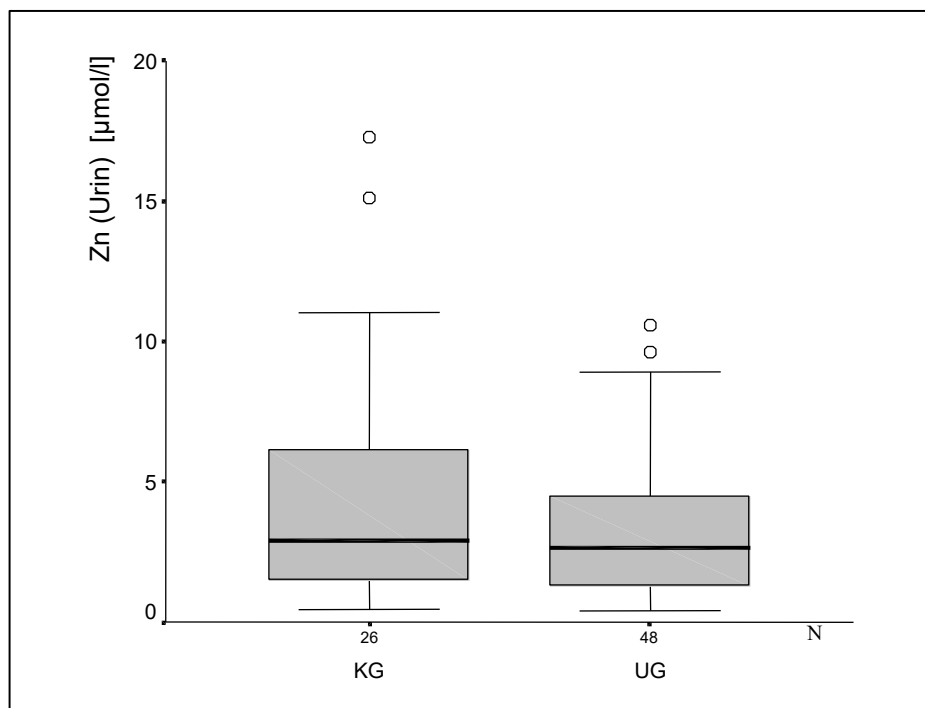


Abb.4.16: Boxplots von Zink (Zn) im Urin, o = Ausreißerwerte

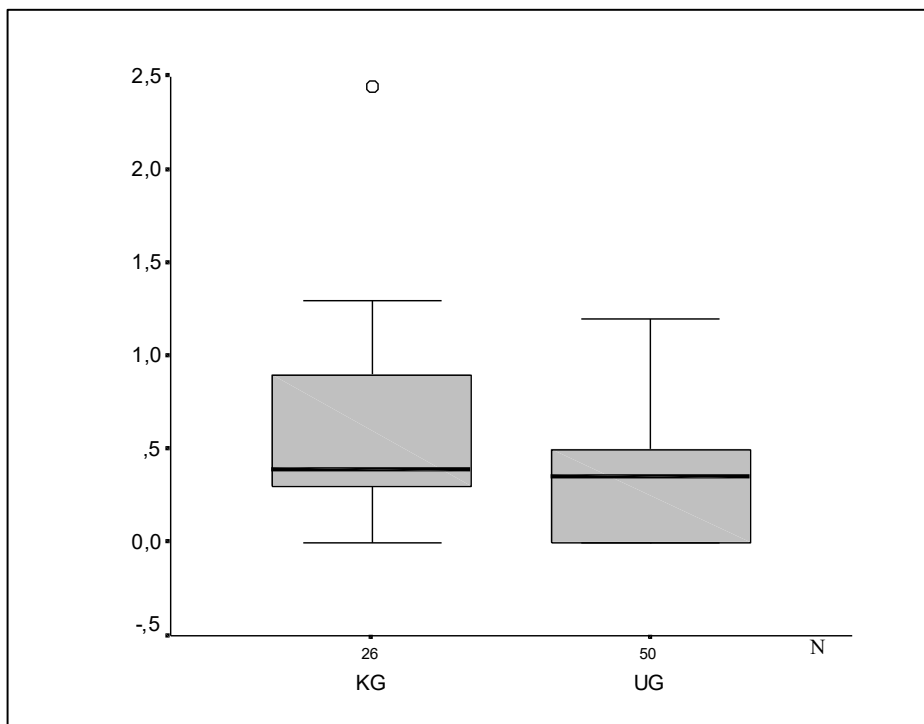


Abb.4.17: Boxplots von Zink (Zn) im Speichel; o = Ausreißerwert

4.2.8 Magnesium

Bei Magnesium gab es weder in Vollblut (KG: $1,34 \pm 0,13 \mu\text{mol/l}$; UG: $1,33 \pm 0,20$), Serum (KG: $0,80 \pm 0,05 \mu\text{mol/l}$; UG: $0,78 \pm 0,06 \mu\text{mol/l}$), Urin (KG: $2,41 \pm 1,65 \mu\text{mol/l}$; UG: $2,00 \pm 1,60$), noch Speichel (KG: $0,15 \pm 0,08 \mu\text{mol/l}$; UG: $0,16 \pm 0,09$) signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (s.Abb.4.18-21).

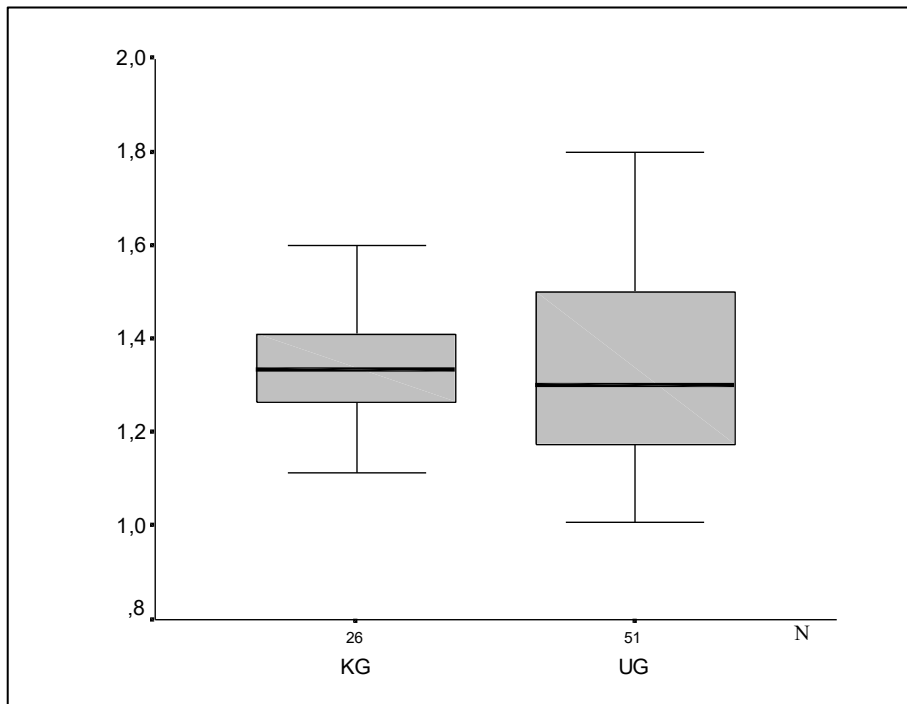


Abb.4.18: Boxplots von Magnesium (Mg) im Vollblut

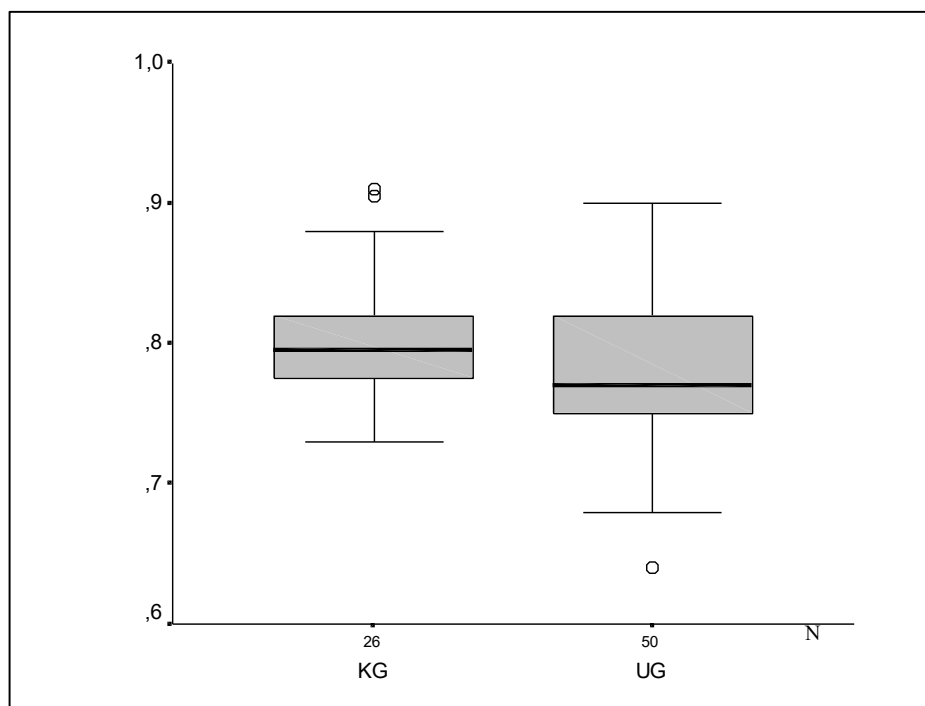


Abb.4.19: Boxplots von Magnesium (Mg) im Serum; o = Ausreißerwerte

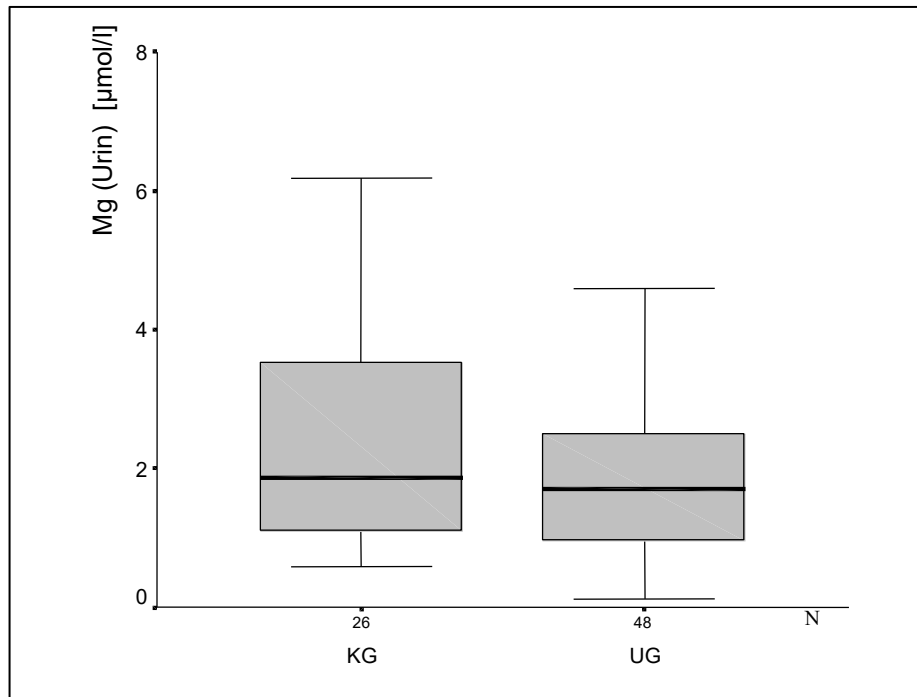


Abb.4.20: Boxplots von Magnesium (Mg) im Urin

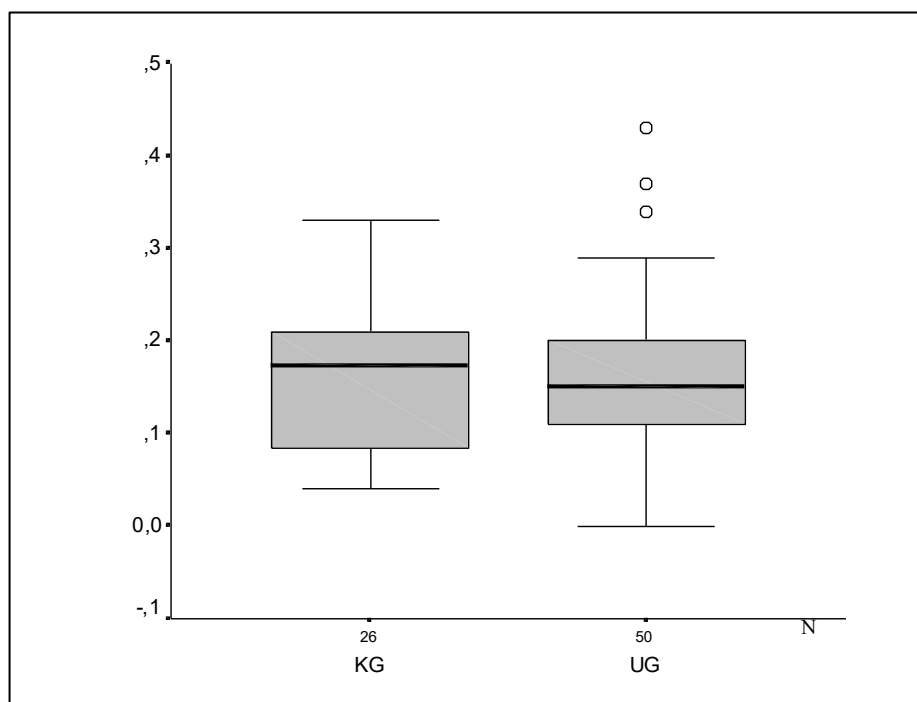


Abb.4.21: Boxplots von Magnesium (Mg) im Speichel; o = Ausreißerwerte

4.2.9 Calcium

Die Calciumkonzentration im Urin von $1,73 \pm 1,03$ µmol/l der Kontrolle unterschied sich nicht signifikant zu $1,58 \pm 1,60$ µmol/l (UG). Sie betrug im Speichel $0,33 \pm 0,09$ µmol/l (KG) und war signifikant kleiner als $0,48 \pm 0,17$ µmol/l (UG; s.Abb.4.22, 23).

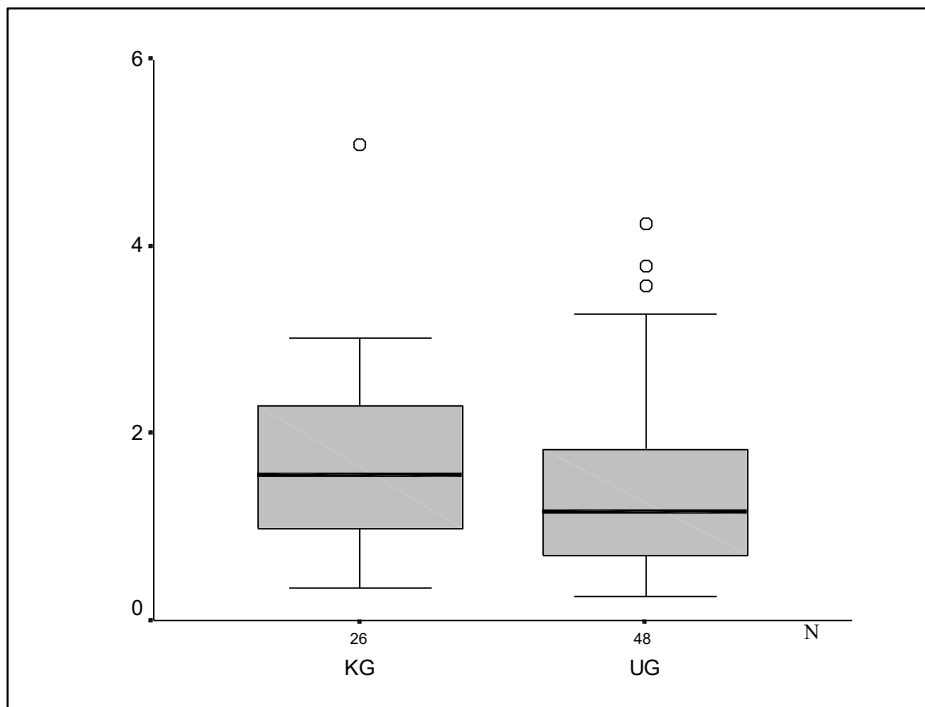


Abb.4.22: Boxplots von Calcium (Ca) im Urin; o = Ausreißerwerte

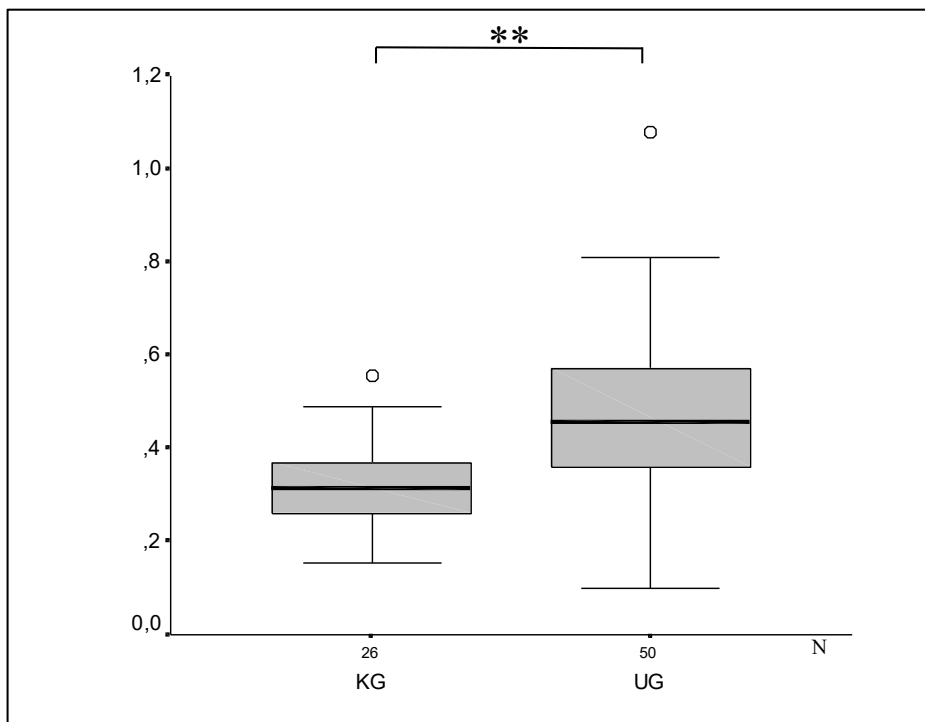


Abb.4.23: Boxplots von Calcium (Ca) im Speichel; ** = $p < 0,01$; o = Ausreißerwerte

4.2.10 Selen

Die Unterschiede der Selenkonzentrationen im Vollblut (KG: $1,12 \pm 0,17 \mu\text{mol/l}$; UG: $1,21 \pm 0,17 \mu\text{mol/l}$) und Serum (KG: $0,94 \pm 0,13 \mu\text{mol/l}$; UG: $1,05 \pm 0,19 \mu\text{mol/l}$) waren signifikant. Im Urin waren sie $0,16 \pm 0,14 \mu\text{mol/l}$ (KG) und nicht signifikant unterschiedlich zu $0,20 \pm 0,17$ (UG; s.Abb.4.24-26).

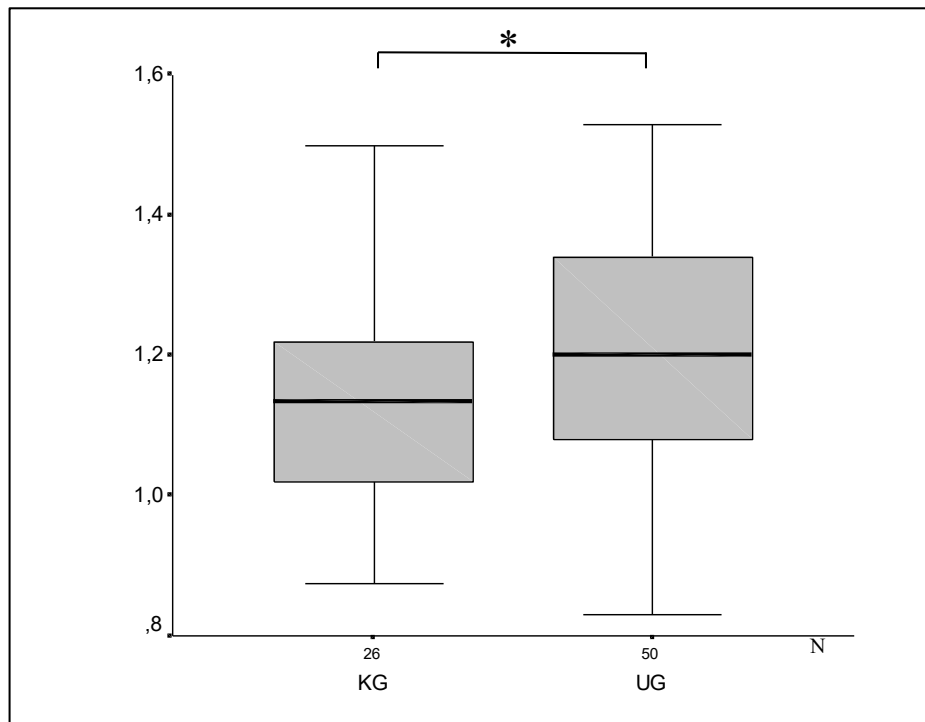


Abb.4.24: Boxplots von Selen (Se) im Vollblut; * = $p < 0,05$

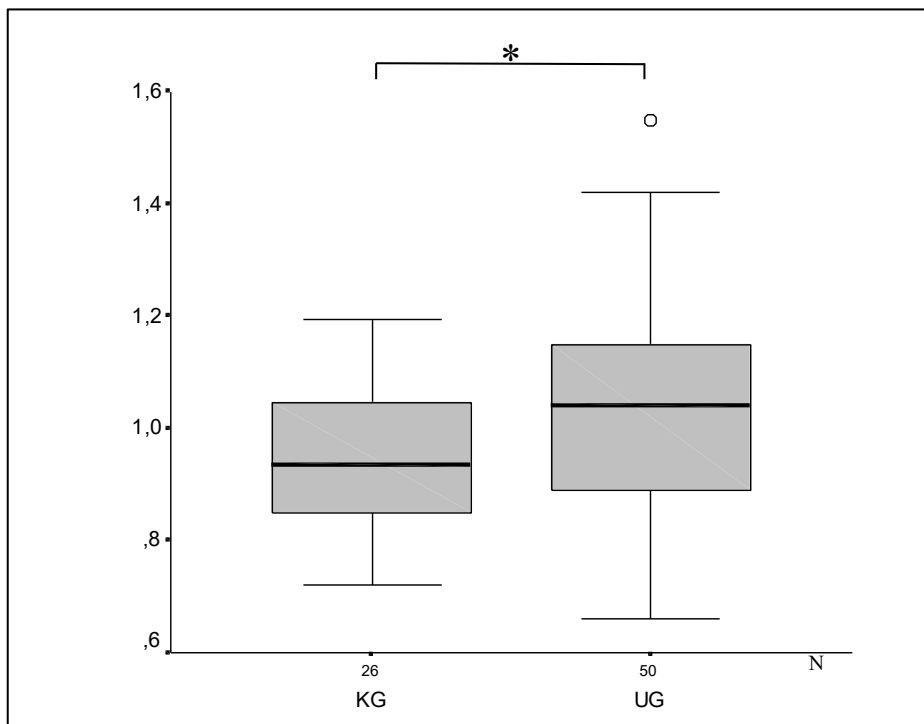


Abb.4.25: Boxplots von Selen (Se) im Serum; * = $p < 0,05$; o = Ausreißerwert

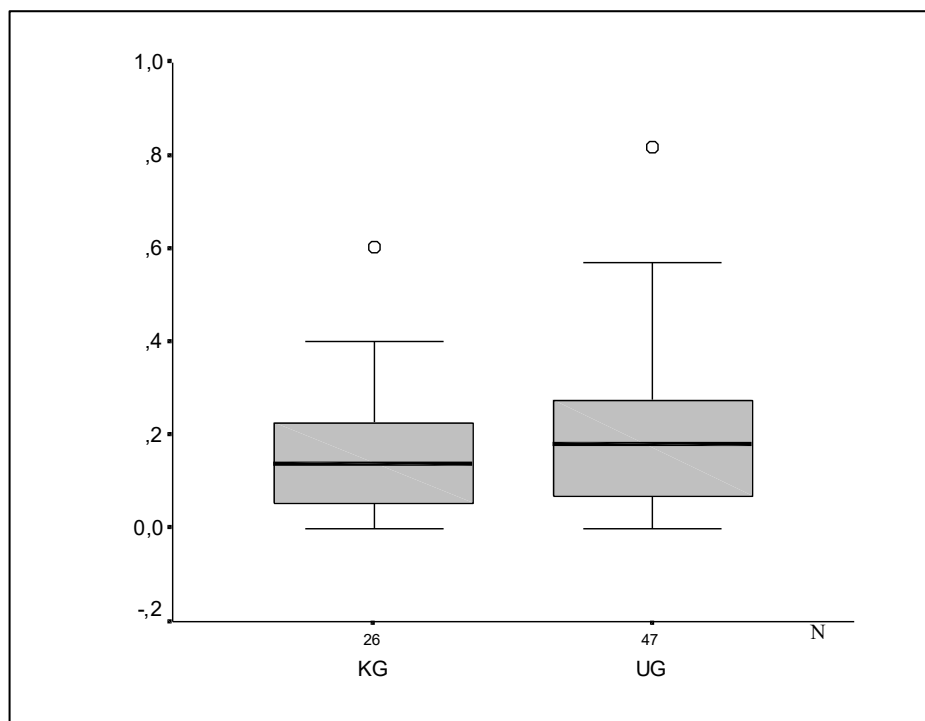


Abb.4.26: Boxplots von Selen (Se) im Urin; o = Ausreißerwerte

4.2.11 Transferrin und Coeruloplasmin

Das Transferrin im Serum wurde mit $2,89 \pm 0,39$ g/l (KG) gemessen und war signifikant kleiner als $3,29 \pm 0,44$ g/l (UG). Die Coeruloplasminkonzentrationen (KG: $0,36 \pm 0,07$ g/l; UG: $0,75 \pm 0,16$ g/l) waren signifikant unterschiedlich (s.Abb.4.27, 28).

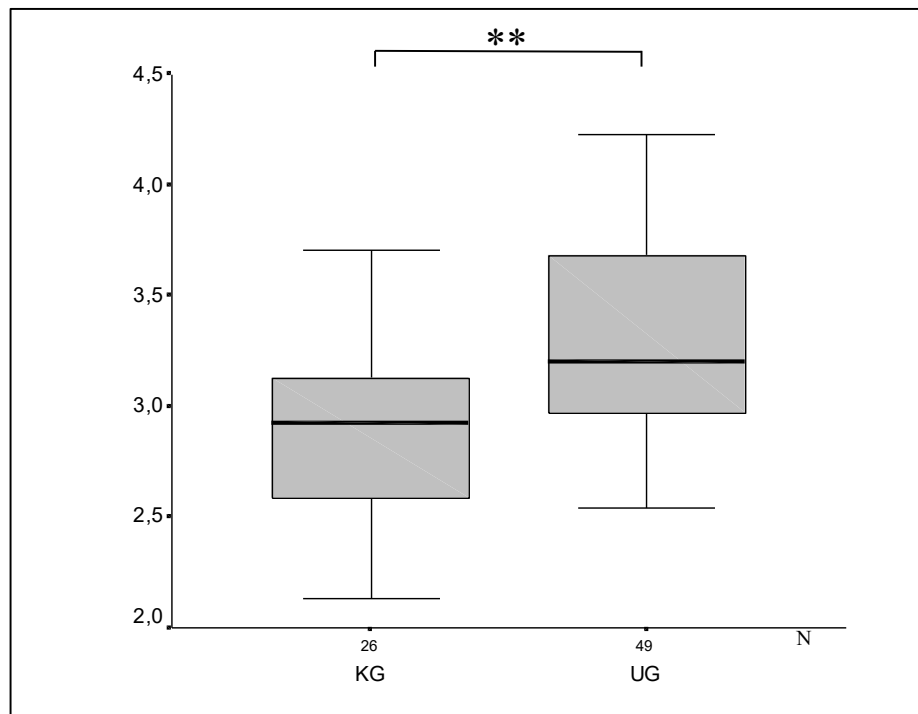


Abb.4.27: Boxplots von Transferrin im Serum; ** = $p < 0,01$

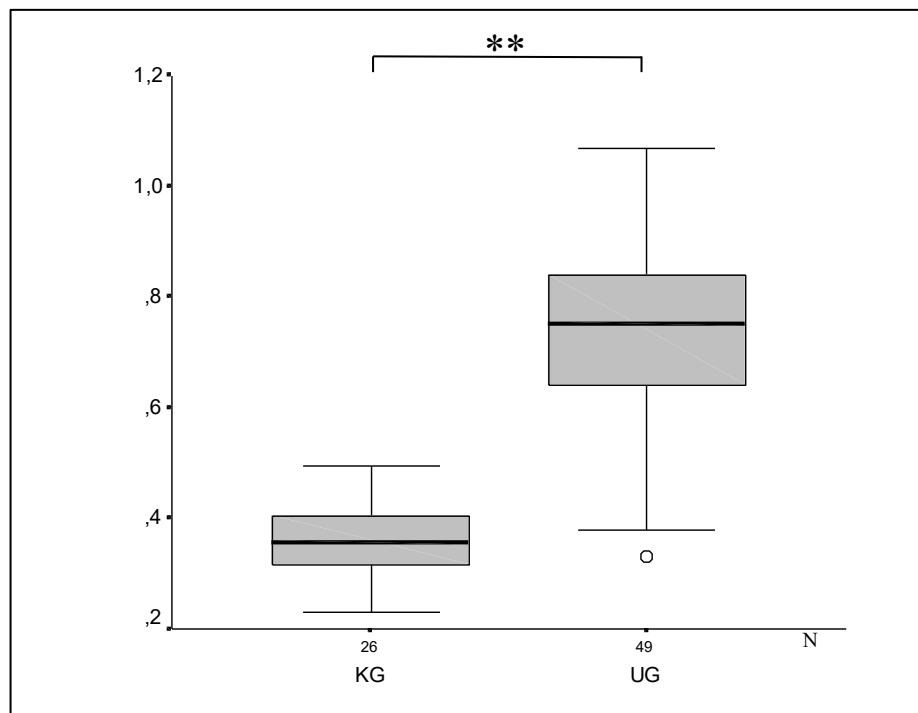


Abb.4.28: Boxplots von Coeruloplasmin im Serum; ** = $p < 0,01$; 0 = Ausreißerwert

4.3 Fette

Die Bestimmung der HDL-Konzentration im Serum der Kontrollgruppe ergab $1,65 \pm 0,25$ mmol/l. Diese war hochsignifikant kleiner als $2,16 \pm 0,64$ mmol/l der Untersuchungsgruppe. Die LDL-Konzentrationen (KG: $2,51 \pm 0,63$ mmol/l; UG: $2,47 \pm 0,51$ mmol/l) waren nicht signifikant unterschiedlich. Cholesterin und Triglyceride im Serum waren jeweils bei den Probandinnen ohne Einnahme hormonaler Kontrazeptiva (Cholesterin: $4,50 \pm 0,73$ mmol/l; Triglyceride: $0,75 \pm 0,31$ mmol/l) signifikant kleiner als bei den Probandinnen mit Einnahme (Cholesterin: $5,13 \pm 0,68$ mmol/l; Triglyceride: $1,32 \pm 0,56$ mmol/l). Der Quotient aus LDL und HDL betrug bei der Kontrollgruppe $1,55 \pm 0,41$ und war signifikant größer als $1,20 \pm 0,32$ der Untersuchungsgruppe (Boxplots s. Abb.4.29-33).

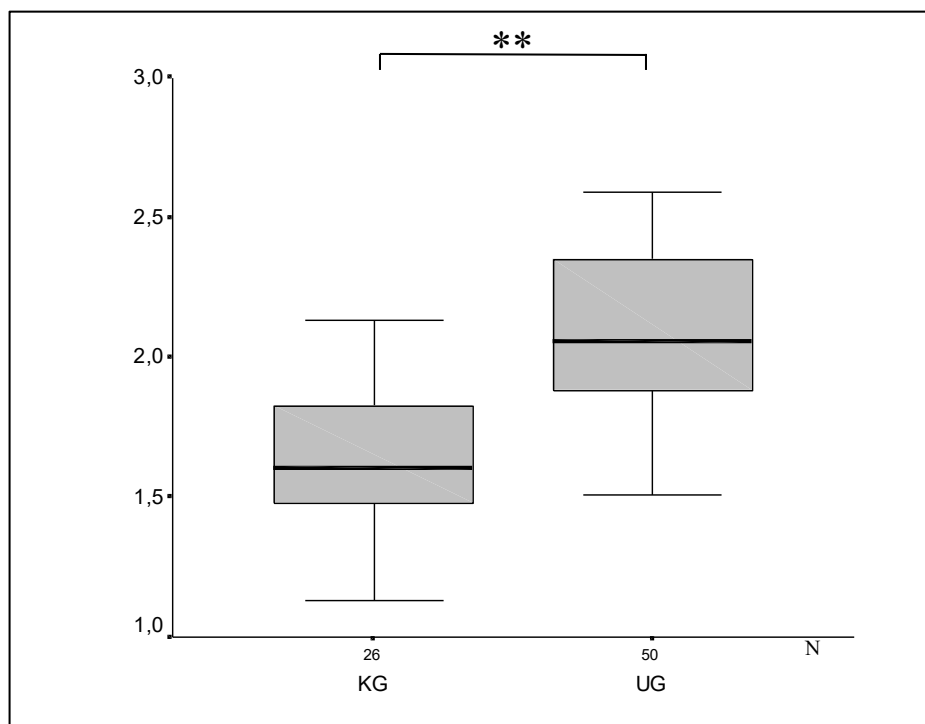


Abb.4.29: HDL im Serum; ** = $p < 0,01$

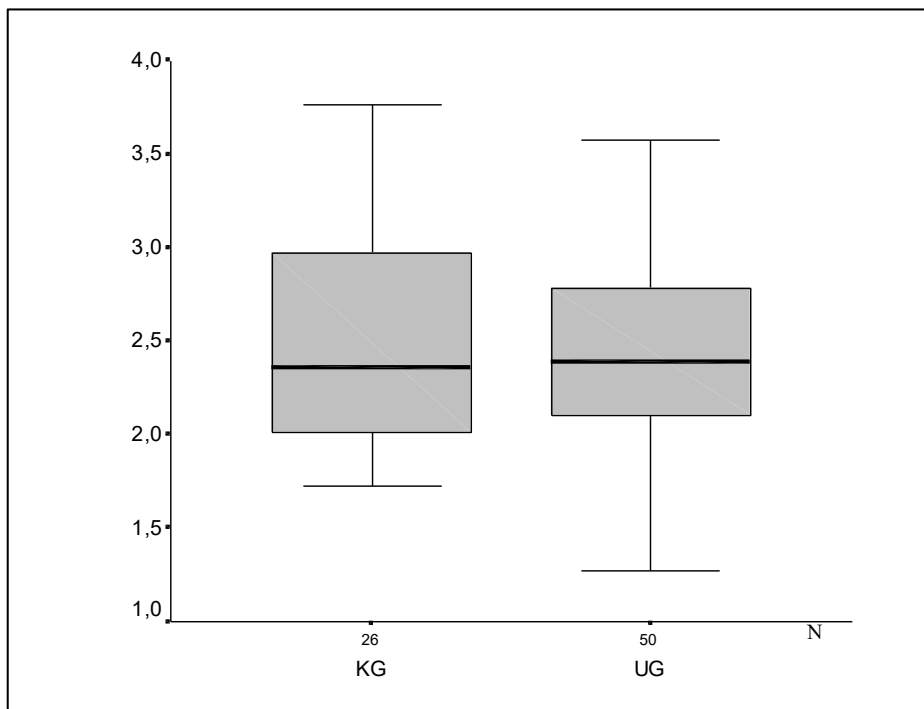


Abb.4.30: LDL im Serum

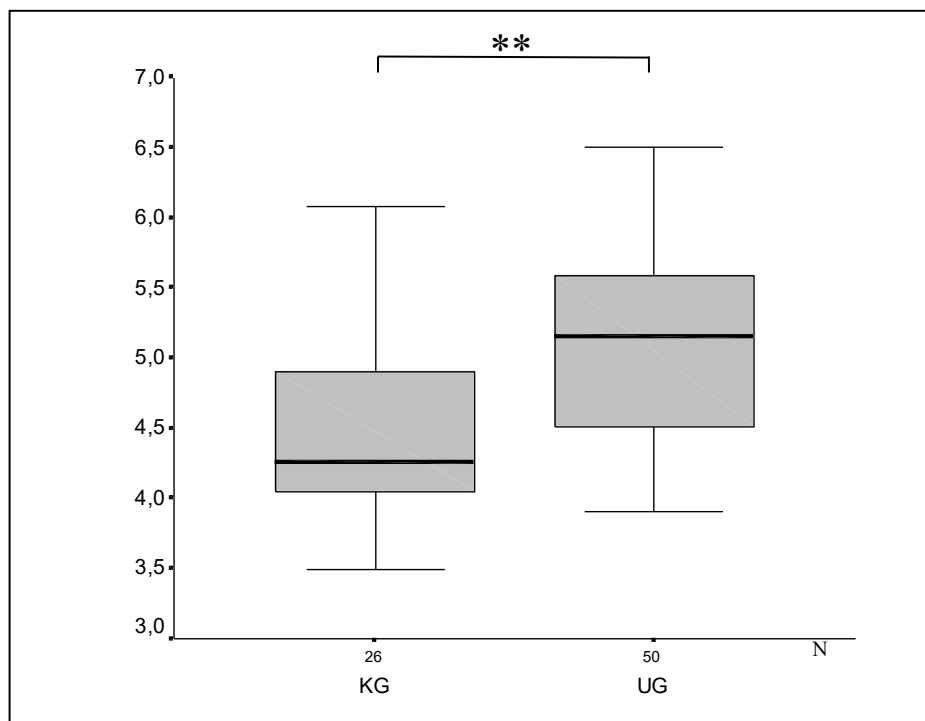


Abb.4.31: Cholesterin im Serum; ** = $p < 0,01$

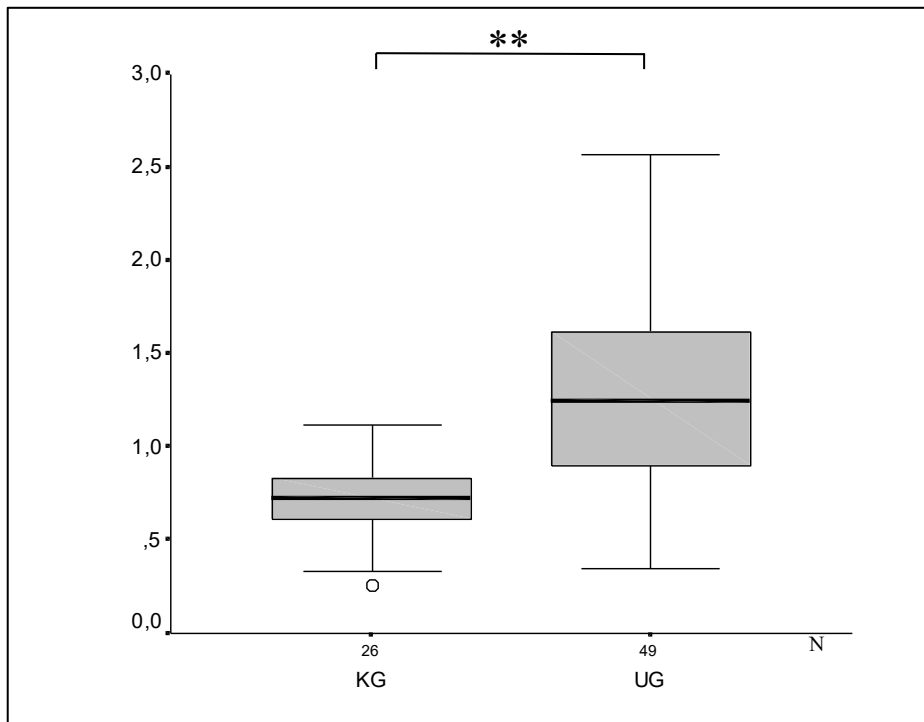


Abb.4.32: Triglyceride (Tg) im Serum; ** = $p < 0,01$; o = Ausreißerwert

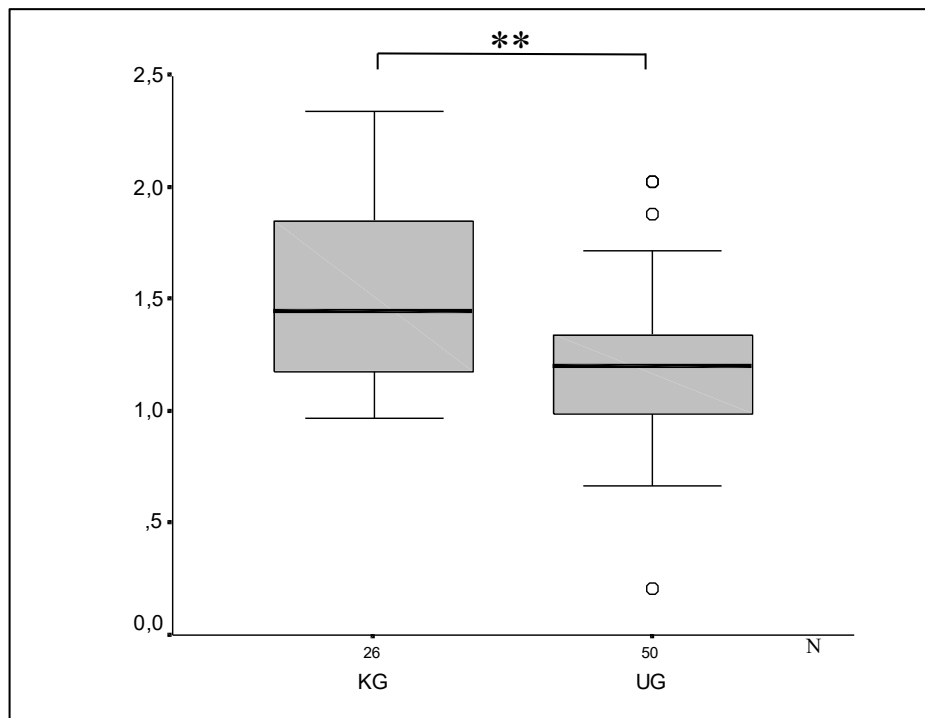


Abb.4.33: Quotient aus LDL und HDL; o = Ausreißerwerte

5. Diskussion

In dieser Studie wurden erstmals eine oxidative Belastung und antioxidative Reaktionen in Vollblut, Serum, Urin und Speichel bei gesunden fertilen Frauen mit und ohne langandauernde orale Kontrazeption quantitativ erfasst und miteinander verglichen.

Die beiden Gruppen waren miteinander vergleichbar. Die Probandinnen unterschieden sich nur durch die Einnahme des hormonalen Kontrazeptivum.

In verschiedenen Studien wurde ein Zusammenhang zwischen Übergewicht, erhöhtem Blutdruck, Lipidperoxidation und der Aktivität antioxidativer Enzyme beschrieben (Mahapatra, S. et al. 1998; Van Gaal, L.F. et al. 1998; Viroonudomphol, D. et al. 2000). Bei unseren Probandinnen lag der BMI jeweils im Bereich des Normalgewichts, Blutdruck und Puls waren nicht pathologisch erhöht, sodass davon ausgegangen werden kann, dass die Ergebnisse nicht maßgeblich von diesen Faktoren beeinflusst wurden. Jedoch lag das Durchschnittsalter der Frauen mit oraler Kontrazeption deutlich über dem der Kontrollgruppe. Obwohl mit fortschreitendem Alter auch die Schädigung vor allem mitochondrialer DNS durch oxidativen Streß zunimmt (Sastre, J. et al. 2000; Wei, Y.H. et al. 2001), sind vermutlich bei einem Durchschnittsalter von 22 bzw. 36 Jahren keine großen Unterschiede der oxidativen Belastung hinsichtlich des höheren Alters anzunehmen. Dennoch darf ein möglicher Einfluss durch das Alter nicht völlig ausgeschlossen werden.

Die Probenentnahme und Aufbereitung wurde bei beiden Gruppen gleichartig durchgeführt. Obwohl bei der Materialgewinnung von den Probandinnen weitgehend auf einheitliche Bedingungen geachtet wurde, konnte diese jeweils nicht zu einer festen Tageszeit erfolgen. Intraindividuelle Schwankungen sowohl im gesunden als auch im erkrankten Organismus sind immer vorhanden und entziehen sich weitgehend der Kontrolle des Untersuchers. Eine Beeinflussung der Ergebnisse durch eventuelle tageszeitliche Schwankungen war also nicht von vornherein völlig auszuschließen.

Dennoch kann angenommen werden, dass durch den relativ großen Stichprobenumfang diese potentiell möglichen Schwankungen ausgeglichen werden konnten.

Der direkte Nachweis von reaktiven Sauerstoffspezies wäre, um das Ausmaß der oxidativen Belastung zu quantifizieren, am besten geeignet gewesen. Jedoch ist der Radikalnachweis aufgrund ihrer hohen Instabilität schwierig. Durch Elektronenspinresonanz (ESR) und sogenanntes spin-trapping, das heißt durch Bindung der Radikale an Nitroso- oder Nitronverbindungen, ist er zwar möglich, wird derzeit aber noch nicht als Routineverfahren zu Radikalbestimmung eingesetzt (Winnefeld, K. 1996). Deshalb stützten wir uns in dieser Arbeit auf den Nachweis von MDA/TBARS als Folgeprodukt der Radikaleinwirkung.

Glutathion ist mit seinen reduzierenden Eigenschaften ein wichtiges Antioxidans, das den Organismus wirksam vor oxidativem Stress schützt. Zahlreiche Faktoren, wie Ischämie, Vergiftungen, Strahlenschäden oder entzündliche Prozesse unterschiedlicher Art können eine Konzentrationsänderung des Glutathions und des Glutathiondisulfids bewirken (Siems, W.G. et al. 1996). So wurde in verschiedenen Studien eine Verschiebung der Glutathion- und Disulfidkonzentration bei körperlicher Belastung beschrieben (Lew, H. et al. 1985; Gohil, K. et al. 1988; Chung, S.C. et al. 1999). Auch thermische Kaltreize führen zu einer oxidativen Belastung des Körpers. Siems und Brenke konnten bei Eisbadern, die sich regelmäßig einem kurzen, aber starken Ganzkörperkaltreiz aussetzten, eine Adaptation des antioxidativen Glutathionsystems an die gesteigerte Radikalbildung feststellen (Siems, W.G. et al. 1999). Dies sind nur einige wenige Beispiele dafür, dass das Glutathionsystem sensibel auf Radikalbelastung reagiert. Ein initialer Abfall des Glutathiongehalts, der gleichzeitig mit einer Steigerung der Synthese einhergeht (Meister, A. 1992), kann deshalb als Maß für akut gesteigerten oxidativen Stress gewertet werden.

Auch eine Abhängigkeit des Glutathionspiegels von weiblichen Geschlechtshormonen wurde bereits beschrieben. So zeigten Dabrosin et al. in einer Studie über das Verhalten der Glutathionkonzentration sowohl im Fettgewebe als auch in Brustepithelzellen, dass gegen Ende des physiologischen Menstruationszyklus gesunder Frauen das Glutathion jeweils mit dem Estradiol und Progesteron anstieg (Dabrosin, C. et al. 1997). Dies ist mit der Modifikation des Leberstoffwechsels durch Sexualhormone zu begründen

(Meister, A. 1988). Außerdem sollen Estradiol und Progesteron die Empfindlichkeit menschlicher Brustepithelzellkulturen gegenüber oxidativem Stress aufgrund von Veränderungen des enzymatischen antioxidativen Systems in den Zellen erhöhen (Dabrosin, C. et al. 1998).

Mit unserer Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich die Glutathionkonzentrationen im Vollblut bei langjähriger Einnahme hormonaler Kontrazeptiva nicht signifikant unterscheiden. Der gleichbleibende, aber in der Tendenz abnehmende Glutathiongehalt für sich gesehen, ist daher kein Hinweis auf eine zusätzliche, zumindest auf keine akute oxidative Belastung bei Langzeiteinnahme der Pille. Vermutlich hat eine Anpassungsreaktion stattgefunden, so dass ein gesteigerter Verbrauch durch vermehrte Synthese von Glutathion ausgeglichen wird.

Dennoch sollte das Ergebnis unter Berücksichtigung der vielfältigen oben genannten Einflussfaktoren auf die Glutathionkonzentration, die unerkannterweiser auftreten könnten, beurteilt werden.

Die Glutathionperoxidase ist ein selenhaltiges, besonders intrazellulär wirksames Enzym, das in Gegenwart von reduziertem Glutathion Peroxide abbaut. Es gibt eine cytosolische und mitochondriale Glutathionperoxidase. Erstaunlicherweise kommen beide Formen in Erythrozyten vor, obwohl diese mitochondrienfrei sind. Dort ist das Enzym zusammen mit der Katalase vor allem verantwortlich für den Erhalt der Erythrozytenfunktion durch Eliminierung der Sauerstoffradikale, die bei der Bildung von Methämoglobin entstehen. Es ist daher ein wichtiges Enzym des antioxidativen Systems. Ein Anstieg der Glutathionperoxidaseaktivität kann als adaptive antioxidative Reaktion auf eine dauerhaft gesteigerte oxidative Belastung hindeuten. Andererseits könnte ein Abfall für einen erhöhten Verbrauch bei plötzlichem oxidativem Stress, für einen Selenmangel oder fehlende Ansprechbarkeit des Systems aufgrund einer Hemmungsreaktion sprechen.

Michaelsson und Massafra fanden beide bei Kurzzeitanwendung niedrigdosierter hormonaler Kontrazeptiva eine höhere Glutathionperoxidase-Aktivität als ohne (Michaelsson, G. et al. 1984; Massafra, C. et al. 1993). Es wurde auch eine positive Korrelation von Östrogen und Glutathionperoxidase während des Menstruationszyklus

festgestellt (Massafra, C. et al. 2000). Im Widerspruch dazu stehen die Ergebnisse einer Studie, in der unter dem Einfluss zwei verschiedener Dreiphasenpräparate, die neben Ethinylestradiol Levonorgestrel bzw. Desogestrel enthielten, eine Abnahme der Enzymaktivitäten Glutathionperoxidase, Superoxiddismutase, Katalase und eine Zunahme von Malondialdehyd beschrieben wurde (Jendryczko, A. et al. 1993).

In dieser Arbeit ergab der Vergleich der Glutathionperoxidase-Aktivität sowohl im Serum als auch im Urin signifikant höhere Werte für die Frauen ohne orale Kontrazeption. Die vergleichsweise geringe Enzymaktivität bei Pilleneinnahme ist auf einen eventuell gesteigerten Verbrauch der Peroxidase oder eine verminderte Synthese zurückzuführen. Dennoch muss hervorgehoben werden, dass sich die Werte noch im physiologischen Bereich bewegten. Im Speichel wurden keine signifikanten Unterschiede der beiden Gruppen festgestellt.

Die Untersuchungen der Glutathionperoxidase-Aktivität unter hormonaler Kontrazeption sind also widersprüchlich und schwierig beurteilbar. Dennoch kann ein gewisser Östrogeneinfluss unabhängig von der eingesetzten Gestagenkomponente auf die Aktivität dieses Enzyms angenommen werden. Außerdem ist zwischen Lang- und Kurzeiteffekt hormonaler Kontrazeption zu unterscheiden. Sicherlich spielen neben Einnahmedauer, auch Ernährung und Jahreszeiten eine Rolle (Garcia, M.J. et al. 2000), die inter- und intraindividuelle Veränderungen des empfindlichen oxidativen Gleichgewichts bewirken können. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass das Glutathionredoxsystem bei jahrelanger Einwirkung niedrigdosierter Sexualsteroiden, wie sie in Valette vorkommen, eine tendenzielle Supprimierung, aber keine pathologische Veränderung zeigt.

Aus zahlreichen Redoxreaktionen von molekularem Sauerstoff in biologischen Systemen gehen Superoxidradikale hervor, die von der Superoxiddismutase katalytisch abgebaut werden. Das Enzym ist sehr wichtig für die Abwehr einer oxidativen Schädigung durch Superoxidradikale. Diese hochreaktiven Sauerstoffderivate führen nicht nur zur Abtötung von Viren und Bakterien, sondern auch zu Zerstörung von Erythrozyten, Granulozyten, Myeloblasten, sowie Peroxidation von Linolensäure, Depolymerisation von Hyalinsäure, Inaktivierung von Enzymen und zuletzt zur Zerstörung von DNS (Hassan, H.M. et al. 1981). Ein Fehlen oder ein Mangel der

Superoxiddismutase hätte also fatale Folgen. Außerdem wird angenommen, dass die Superoxiddismutase antiinflammatorische Effekte hat, nämlich durch Reduktion von O_2^- , welches beim "Respiratory burst" aktivierter phagozytierender Leukozyten entsteht und neben der gewebserstörenden Komponente Chemotaxis auslösen kann (Hassan, H.M. et al. 1981).

Von diesem antioxidativen Enzym gibt es drei verschiedene Formen: die mangan- und kupferzinkabhängige Dismutase, wobei Mangan zur vollen Enzymaktivität führt, Kupfer eine katalytische und Zink eine strukturelle Funktion in der jeweiligen Enzymart einnimmt. Die Cu/ZnSOD wurde in Erythrozyten, Leber und Gehirn gefunden. Die MnSOD kommt intrazellulär sowohl zytosolisch als auch mitochondrial vor.

Der SOD-Spiegel wird durch die Rate an intrazellulärem Superoxidanion reguliert. Bei Kupfermangel wurde ein erhöhter MnSOD-Gehalt gemessen, so dass letztendlich der Gesamtspiegel der Dismutase konstant blieb (Hassan, H.M. et al. 1981). Dies zeigt, dass das System immer bestrebt ist, ein Gleichgewicht zu erreichen und somit für den Organismus stets ausreichend Enzym vorhanden ist.

Sowohl synthetische als auch natürliche Östrogene und Gestagene können einen Einfluss auf die Superoxiddismutase haben, die Literatur dazu ist aber zum Teil widersprüchlich. So wurde zum Beispiel gefunden, dass sich die SOD mit steigendem 17 β -Estradiolgehalt als ein natürliches Steroid in tierischen Follikeln gegenläufig verhält (Singh, D. et al. 1998). Dagegen wurde bei der Untersuchung verschiedener antioxidativer Enzyme bei oraler Einnahme von Ethinylestradiol und Desogestrel keine Veränderung der SOD im Laufe von 9 Einnahmezyklen festgestellt (Massafra, C. et al. 1993). Auch die transdermale Anwendung von Estradiol allein über einen Monat zeigte keinen Effekt auf die SOD-Aktivität (Massafra, C. et al. 1996).

Unsere Untersuchung ergab ähnlich wie die von Jendryczenko et al. (Jendryczko, A. et al. 1993), dass der Einsatz des Ovulationshemmers zu einem Abfall der Aktivität des Enzyms Superoxiddismutase (SOD) im Vollblut unterhalb des Referenzbereiches führte. Diese Aktivitätsminderung ist schwierig einzuordnen, lässt aber im Hinblick auf Ergebnisse anderer Studien einen Östrogen- und Gestageneinfluss auf die SOD wahrscheinlich werden. Dennoch kann eine Überlagerung durch andere individuelle Einflüsse zum Beispiel durch das Alter (Inal, M.E. et al. 2001) nicht ausgeschlossen werden. In Anbetracht der Tatsache, dass die Superoxiddismutase wichtige

antioxidative Funktionen wahrnimmt, sollte der niedrigen Enzymaktivität bei Langzeitpilleneinnahme durch weiterführende Studien nachgegangen werden.

Malondialdehyd (MDA) als Produkt der Lipidperoxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren spielt eine bedeutende Rolle in der Pathogenese der Arteriosklerose. Es verhindert die Aufnahme des LDL über das Apo-B durch den LDL-Rezeptor. Stattdessen wird das oxidierte LDL, das sich in der intimalen Flüssigkeit zwischen Gefäßendothel und glatten Muskelzellen anreichert, von Makrophagen endozytotisch aufgenommen. Die Makrophagen wandeln sich zu Schaumzellen um und setzen die Entwicklung von atherogenetischen Plaques in Gang (Holvoet, P. et al. 1998). MDA wird auch enzymatisch gebildet und kommt unter physiologischen Bedingungen vor (Esterbauer, H. et al. 1991). Es ist nicht der einzige Marker von Lipidperoxidation, lässt sich aber durch den häufig durchgeführten TBA-Assay leicht bestimmen. In der Literatur gilt dieser Test als zu unspezifisch, weil Thiobarbitursäure noch mit anderen Substanzen reagiert (Moore, K. et al. 1998). Um eine höhere Spezifität für freies MDA und eine Genauigkeit ähnlich der HPLC-Technik zu erreichen, wurde in unserer Arbeit der TBA-Assay in Kombination mit Trichloressigsäure, das zur Enteiweißung eingesetzt wurde, durchgeführt (Esterbauer, H. et al. 1991).

Die Wirkungen steroidaler Geschlechtshormone auf die Lipidperoxidation ist komplex und von vielen Einflussfaktoren abhängig. So spielen Alter, Einnahmedauer, Dosierung von synthetischen oder natürlichen Östrogenen, so wie sie zur postmenopausalen Hormonersatztherapie eingesetzt werden, und Nikotineinfluss eine bedeutende Rolle und können eine Veränderung des MDA-Spiegels in den verschiedenen Kompartimenten bewirken.

Der Einfluss von Sexualsteroiden auf den MDA-Spiegel wurde durch verschiedene Studien demonstriert. Es zeigte sich eine Abhängigkeit von der Einnahmedauer der Hormone. So führte die Kurzzeitanwendung zweier Kontrazeptiva mit niedrigem Östrogenanteil mit verschiedenen Gestagenkomponenten zu einem Anstieg von Malondialdehyd im Serum, während die Langzeiteinnahme einen Abfall bewirkte. Eine zusätzliche Substitution mit Vitamin E zeigte keine Veränderungen (Klinger, G. et al. 1997). Ob sich eine postmenopausale Hormontherapie günstig auf den MDA-Spiegel auswirkt, lässt sich aufgrund der positiven Korrelation zwischen der Konzentration von MDA und dem Alter nur schwierig beurteilen (Inal, M.E. et al. 2001; Signorelli, S. et al.

2001). Eine eindeutig positive Wirkung haben allerdings natürliche Östrogene auf den Fettstoffwechsel und die Gefäßwand. Sie führen im Gegensatz zu den Gestagenen zu einer Vasodilatation durch vermehrte Freisetzung von Prostazyklin und EDRF (endothelien derived growth factor), ausserdem hemmen sie wirksam die Lipidperoxidation (Kuhl, H. 1994).

In dieser Arbeit bewegten sich die MDA-Konzentrationen im Serum bei Einnahme von Ethinylestradiol und Dienogest im oberen Grenzbereich der Norm. Ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe im Serum bestand nur bei einem Vergleich der Nichtraucher der beiden Gruppen. Dieser ergab deutlich höhere Werte für den toxischen Aldehyd bei den Pillenanwenderinnen. Die Ausscheidung von MDA mit dem Urin war auch ohne die Berücksichtigung der Rauchgewohnheiten der Probandinnen bei Einnahme des Kontrazeptivum deutlich größer. Wahrscheinlich wurde über die Niere als Anpassungsreaktion der Langzeitwirkung des Ovulationshemmers die Elimination von MDA angeregt, um die Plasmakonzentration niedrig zu halten. Im Speichel dagegen wurden keine signifikanten Unterschiede, tendenziell aber höhere Werte unter Kontrazeption festgestellt. Da die Konzentrationen im Speichel aber extrem gering waren, ist diese Bestimmung nur bedingt aussagekräftig.

Ein Effekt synthetischer Hormone auf das oxidative Folgeprodukt Malondialdehyd bei Nichtraucherinnen wurde mit diesen Ergebnissen bestätigt. Wie bereits oben erwähnt, wurden von Jendryczenko et al. ähnliche Veränderungen beobachtet (Jendryczko, A. et al. 1993). Unter Berücksichtigung der geringeren Enzymaktivitäten von Glutathionperoxidase und Superoxiddismutase und den erhöhten MDA-Konzentrationen ist eine gesteigerte Lipidperoxidation und eine Hemmung oder ein Verbrauch antioxidativer Enzyme bei hormonaler Kontrazeption zu erwägen. Die hohen Konzentrationen im Urin und die grenzwertigen Serumkonzentrationen sprechen dabei für eine relativ gute renale Kompensation bei Langzeiteinwirkung der Sexualhormone. Ein Nikotineinfluss auf MDA ist ebenfalls anzunehmen. Entsprechende weiterführende Untersuchungen sind von Interesse, um genaue Veränderungen zu analysieren.

Der Mensch enthält ungefähr 3 bis 5 g Eisen. 60 % des Eisens sind an Hämoglobin, ca. 5% an Enzyme, wie zum Beispiel Cytochrome, Katalasen oder Peroxidasen gebunden. 25 % liegen als Speichereisen in Form von Ferritin und Hämosiderin vor und nur ein

kleiner Anteil ist im Plasma gebunden an das Transportprotein Transferrin (Hinzmann, R.D. 1997). Somit ist der Eisengehalt auf zahlreiche Kompartimente verteilt und die Eisenkonzentrationen in Vollblut, Serum und Urin spiegeln nur zum Teil die realen Verhältnisse wider.

Obwohl Eisen für den Organismus ein essentielles Metallion ist, kann eine Eisenüberladung schwerwiegende Folgen haben. So führt zum Beispiel eine pathologisch erhöhte intestinale Eisenresorption bei Hämochromatose zur intrazellulären Ablagerung von Ferritin und Hämosiderin mit Zerstörung der Zellen und nachfolgender Fibrosierung. Besonders betroffen sind dabei Leber, Pankreas und Herzmuskelzellen. Wahrscheinlich liegt diesen Veränderungen eine zytotoxische Wirkung von Eisen, vermittelt durch gesteigerte Radikalbildung zugrunde. Schon Fenton, Haber und Weiss haben Ende des vorletzten bzw. Anfang des letzten Jahrhunderts beobachtet, dass zweiwertiges Eisen zusammen mit Wasserstoffperoxid Hydroxylradikale generieren kann (Fenton, H. 1894; Fenton, H. 1899; Haber, F. et al. 1934). Später wurde dann beschrieben, dass die durch die Fenton-Reaktion gebildeten Hydroxylradikale vorwiegend mit ungesättigten Fettsäuren (PUFAs) zu Hydroperoxiden reagieren (Kappus, H. 1985). Somit nimmt Eisen eine Schlüsselrolle an der Initiierung von Lipidperoxidation im Plasma ein und ein erhöhter Eisenstatus wird mit der Entstehung von Artherosklerose in Zusammenhang gebracht (Salonen, J. et al. 1992).

Eine Erhöhung der Serumeisenkonzentrationen kann nicht nur durch verschiedene Erkrankungen, sondern auch durch Ovulationshemmer erfolgen (Frassinelli-Gunderson, E.P. et al. 1985). Diese Erhöhung wird durch die verminderte Abbruchblutung im Vergleich zur natürlichen Menstruationsblutung und eine gesteigerte Eisenresorption erklärt (Klinger, G. et al. 1980; Newhouse, I.J. et al. 1993).

Auch wir konnten eine erhöhte Eisenkonzentration im Serum und eine vermehrte Ausscheidung von Eisen mit dem Urin unter dem hormonalen Antikonzeptivum feststellen. Allerdings stehen diese Ergebnisse den signifikant höheren Eisenwerten der Kontrollgruppe im Vollblut entgegen. Da im Vollblut nach Hämolyse der Erythrozyten das Gesamteisen bestimmt wurde, entstanden womöglich Ungenauigkeiten, die dieses Ergebnis unsicher machen.

Analog zu den Veränderungen des Serumeisens zeigte auch das Transferrin im Serum entsprechend anderer Vorstudien (Klinger, G. et al. 1980; Palomo, I. et al. 1990) erhöhte

Werte, die ausserhalb des Normbereichs lagen. Als Erklärung wird eine gesteigerte Syntheserate des Transferrins, bedingt durch den Östrogeneinfluss, diskutiert (Klinger, G. et al. 1980).

Inwiefern sich diese erhöhten Eisenkonzentrationen bei hormonaler Antikonzeption toxisch auswirken, hängt stark von der oxidativen Belastung durch Sauerstoffradikale, wie die Fenton-Reaktion deutlich macht, und dem Vorhandensein wirksamer antioxidativer Abwehrsysteme ab (Stohs, S.J. et al. 1995). Bei einem Mangel an antioxidativen Enzymen, wie Glutathionperoxase oder Superoxiddismutase und einem erhöhten MDA-Spiegel als Ausdruck gesteigerter Lipidperoxidation, könnte deshalb ein erhöhter Eisenspiegel eine zusätzliche Gefährdung durch oxidativen Stress bei hormonaler Konzeption bedeuten. Da besonders freie Metallionen eine Rolle spielen, wäre in diesem Fall eine Bindung des Eisens durch Komplexbildner wie Desferroxamin zu erwägen, um schädigende Reaktionen des Eisens zu vermeiden.

Kupfer wird im Plasma an Coeruloplasmin oder Albumin gebunden transportiert. Es ist essentieller Kofaktor für viele Enzyme, einschließlich von Oxidasen und Oxygenasen. Die Rolle des Kupfers und des Coeruloplasmins als Anti- bzw. Oxidans ist zum Teil noch unklar. Kupfer ist als Bestandteil der Superoxiddismutase indirekt an antioxidativen Prozessen beteiligt. Dennoch werden erhöhte Plasmakupferkonzentrationen mit der Atherogenese in Zusammenhang gebracht (Ford, E.S. 2000) und auch über prooxidative Eigenschaften des Coeruloplasmins wird diskutiert (Fox, P.L. et al. 1995; Fox, P.L. et al. 2000). Ähnlich wie Eisen, beschrieben durch die Fenton- und Haber-Weiss-Reaktion, wirkt auch Kupfer als Katalysator bei der Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies und der Peroxidation von Membranlipiden. Außerdem beschleunigt es in Abhängigkeit der Konzentration die Oxidation von Hydro- und Benzochinonen. In Anwesenheit dieser Chinone fördert Kupfer die Bildung von DNS-Strangbrüchen (Stohs, S.J. et al. 1995). Wirksam gehemmt werden können diese Reaktionen zum einen durch Glutathion, welches das einwertige Kupfer stabilisiert, und zum anderen durch die Superoxiddismutase, die Superoxidanionen abfangen kann (Stohs, S.J. et al. 1995).

Ein Hormoneinfluss auf den Kupferhaushalt ist deutlich erkennbar. Denn in mehreren Studien wurden erhöhte Kupfer- und Coeruloplasminspiegel unter hormonaler

Kontrazeption beschrieben (Klinger, G. et al. 1980; Heese, H.D. et al. 1987; Johnson, P.E. et al. 1992; Milne, D.B. et al. 1993; Newhouse, I.J. et al. 1993; Berg, G. et al. 1998), wobei die Östrogen- und Gestagenabhängigkeit dieser Veränderungen unterschiedlich diskutiert werden (Klinger, G. et al. 1980; Chilvers, D.C. et al. 1985; Berg, G. et al. 1998). Während manche Autoren keine Gestagenwirkung auf den Kupferhaushalt nachweisen konnten, beschrieben Berg et al. ein signifikant höheres Serumkupfer bei gleichzeitig vorhandenen antiandrogenen Effekten der Gestagenkomponente (Berg, G. et al. 1998).

Übereinstimmend mit bisherigen Studienergebnissen konnten auch wir signifikant höhere Kupfer- und Coeruloplasminwerte in Vollblut und Serum unter hormonaler Antikonception nachweisen. Die Konzentrationen im Serum lagen dabei deutlich außerhalb des physiologischen Normbereichs. Eine vorwiegend östrogeninduzierte Steigerung der Syntheserate des Coeruloplasmins in der Leber wird dafür verantwortlich gemacht (Klinger, G. et al. 1980; Newhouse, I.J. et al. 1993; Amatayakul, K. et al. 1994).

Die Konzentrationserhöhung von Kupfer und Coeruloplasmin unter Ovulationshemmern ist also eindeutig belegt und vor allem zurückzuführen auf östrogen- bzw. antiöstrogene Effekte. Sie ist auch während der Schwangerschaft und unter postmenopausaler Hormontherapie zu beobachten (Chilvers, D.C. et al. 1985). Vergleichbar zum Eisen ist die Beurteilung der Toxizität äußerst schwierig. Die oxidative Potenz des Kupfers gilt als gesichert und eine Verbindung zwischen hohen Kupfer-, sowie auch Coeruloplasminkonzentrationen und erhöhtem Risiko für koronare Herzkrankheit ist durch verschiedene Studien hergestellt (Ford, E.S. 2000). Jedoch betont auch Ford, dass viele Faktoren zusammen den Kupferstatus beeinflussen können.

Zink spielt neben der Synthese von Nukleinsäuren eine bedeutende Rolle bei der zellvermittelten Immunantwort (Reinhold, J. 1975) und ist als wichtiges Spurenelement Bestandteil von zahlreichen Metalloproteinen. Ebenso wie Kupfer, ist Zink an der Funktion der kupferzinkabhängigen Superoxiddismutase beteiligt und somit antioxidativ wirksam. Kupfer und Zink beeinflussen sich gegenseitig und ihre Konzentrationen verhalten sich häufig gegensätzlich zueinander (Newhouse, I.J. et al. 1993). Die Zinkhomöostase wird vor allem über die intestinale Resorption kontrolliert

(Flippo, R.M. et al. 1987). Besonders beim weiblichen Geschlecht lassen sich jahreszeitliche Schwankungen des Plasmazinkspiegels beobachten (Garcia, M.J. et al. 2000).

Studien über die Zinkkonzentration unter hormonaler Kontrazeption zeigten unterschiedliche Ergebnisse. Sowohl bei Kurzzeitanwendung niedrig dosierter kombinierter oraler Kontrazeptiva mit Levonorgestrel bzw. Desogestrel unter einem Jahr, als auch bei längerfristiger Einnahme wurden unveränderte Zinkspiegel in Serum, Vollblut oder Haaren gemessen (Vir, S.C. et al. 1979; Vir, S.C. et al. 1981; Liukko, P. et al. 1988; Newhouse, I.J. et al. 1993). Dagegen beobachteten andere Autoren eine Erniedrigung (Tyrer, L. 1984) oder gar eine Zunahme des Serumzinks (Klinger, G. et al. 1980) unter hormonaler Antikonzeption.

Die Ergebnisse unserer Studie zeigten, dass die Zinkkonzentrationen in den verschiedenen Kompartimenten schwankten. In Vollblut, Urin und Speichel bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Im Serum dagegen war eine signifikante Verminderung von Zink unter oraler Kontrazeption zu verzeichnen. Die Werte fielen aber nicht bis unter den Referenzbereich ab. Betrachtet man nur die Nichtraucher unter den Probandinnen, so waren die Zinkkonzentrationen im Vollblut unter hormonaler Kontrazeption signifikant höher.

Die Interpretation dieser Veränderungen ist schwierig, besonders da das Spurenelement in geringen Mengen vorkommt. Die signifikant höhere Zinkkonzentration im Vollblut unter Hormoneinnahme bei den Nichtraucherinnen ist wahrscheinlich auf einen gesteigerten Zinkgehalt der Erythrozyten zurückzuführen (Newhouse, I.J. et al. 1993). Der gleichzeitig beobachtete Zinkabfall im Serum spricht für eine Umverteilung von Zink in andere Kompartimente. Möglicherweise könnten die hohen östrogen- und gestageninduzierten Kupferkonzentrationen im Serum eine gesteigerte Aufnahme von Zink in die Erythrozyten bewirken, die durch Nikotin gebremst wird, welches gleichzeitig einen Zinkabfall bewirkt.

Da erhöhte Kupfer- und erniedrigte Zinkkonzentrationen, wie sie bei den untersuchten Frauen zu finden sind, mit gesteigerter kardiovaskulärer Sterblichkeit in Zusammenhang gebracht wurden (Reunanen, A. et al. 1996), sollte den Ergebnissen durch weiterführende Studien genauer nachgegangen werden.

Die Funktionen des Erdalkalimetalls Magnesium im menschlichen Organismus sind vielfältig. Es ist Kofaktor phosphatübertragender Enzyme, wichtig für Signaltransduktionswege und hemmt die Freisetzung von Transmittern im zentralen und peripheren Nervensystem. Zudem hat es antioxidative Eigenschaften, welche zum Teil nicht genau bekannt sind. Indirekt protektiv wirkt das Erdalkalimetall, weil es unabdingbar ist für die Synthese von Glutathion und wichtiger antioxidativer Enzyme (Whank, R. et al. 1994). Nicht unwesentlich ist auch die Regulation der Calciumpumpe durch Magnesium, wodurch intrazelluläre Calciumkonzentrationen im physiologischen Bereich gehalten und zytotoxische Anreicherungen vermieden werden (Rude, R. 1993).

Verschiedene Studien konnten einen Zusammenhang zwischen Magnesiummangel und einer Zunahme der Anfälligkeit gegenüber oxidativem Stress feststellen (Freedman, A.M. et al. 1992; Shivakumar, K. et al. 1997; Kuzniar, A. et al. 2001). Zurückzuführen sind diese Veränderungen bei einem Magnesiumdefizit wahrscheinlich auf eine verminderte intrazelluläre Glutathionkonzentration, wie sie Freedman et al. bei Magnesiummangel in Erythrozyten gefunden haben, eine Abnahme der Aktivitäten von SOD und GSHPx in Herzmuskel- und Leberzellen (Kuzniar, A. et al. 2001) und einer möglichen Zunahme der Produktion freier Radikale (Freedman, A.M. et al. 1992).

Auch der Einfluss der Pille auf den Magnesiumspiegel wurde untersucht und dabei eine Verminderung des Serummagnesium festgestellt (Newhouse, I.J. et al. 1993).

Widersprüchlich zu diesen Ergebnissen fanden wir keine signifikanten Unterschiede des Magnesiumstatus zwischen den beiden Gruppen. Die Werte bewegten sich in Vollblut, Serum und Urin jeweils im Normbereich. Die Konzentrationen im Speichel waren extrem niedrig und sind deshalb nur mit Einschränkungen verwertbar. Auch innerhalb der Kontrollgruppe konnten wir im Gegensatz zu Das et al. (Das, K. et al. 1997) keine zyklusabhängigen Schwankungen ausmachen. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass das über einen langen Zeitraum hier eingesetzte Hormonpräparat die Magnesiumkonzentrationen in den verschiedenen Kompartimenten nicht entscheidend verändert.

Über einen möglichen Effekt von hormonalen Kontrazeptiva auf den Calciumspiegel und die Rolle des Calcium im oxidativen Gleichgewicht wird in der Literatur nur wenig berichtet. Newhouse et al. konnten keine Veränderung des Serumcalcium bei oraler Kontrazeption feststellen (Newhouse, I.J. et al. 1993). In einer Studie über den Antioxidantienstatus von Parodontitispatienten im Speichel von Klinger et al. wurden nur bei den männlichen Parodontitispatienten deutlich höhere Calciumwerte im Speichel gegenüber den Gesunden beschrieben. Die Konzentrationen bei den Probandinnen sowohl mit als auch ohne orale Antikonzeption stiegen bei den Erkrankten nur geringfügig an (Klinger, G. et al. 2001). Ein gewisser Hormoneffekt und eine Beeinflussung durch entzündliche Prozesse auf Calcium im Speichel sind also erkennbar.

In der vorliegenden Arbeit wurden nur Urin und Speichel auf Calcium untersucht. Die Calciumausscheidung im Urin war bei beiden Gruppen gleichermaßen gering. Im Speichel konnten dagegen signifikant höhere Werte unter Pilleneinnahme gemessen werden. Möglicherweise ist eine Beeinflussung von Calcium im Speichel mit einer östrogenbedingten Proteininduktion zu erklären (Klinger, G. et al. 2001). Außerdem wäre es denkbar, dass klinisch stumm verlaufende Entzündungsreaktionen der Probandinnen zu diesem Ergebnis führen konnten.

Selen ist ein bedeutender Bestandteil vieler enzymatischer Reaktionen, des Immun- und antioxidativen Systems (Holben, D.H. et al. 1999). Es trägt auch durch Komplexbildung zur Entgiftung von Schwermetallen bei, wie zum Beispiel von Silber, Quecksilber und Kadmium. Die im Organismus neben Selenomethionin am häufigsten vorkommende Form ist das Selenozystein, das im Gewebe gespeichert wird und für die Synthese der Glutathionperoxidase zur Verfügung steht. 11 verschiedene Proteine sind bekannt, die Selen in Form von Selenozystein enthalten: Glutathionperoxidase, Thioredoxinreduktase, Selenoprotein P und W, Iodothyronindeiodinasen und Selenophosphatsynthetase, um nur die wichtigsten zu nennen (Holben, D.H. et al. 1999). Die anorganischen Formen Selenat und Selenit dagegen werden schlechter resorbiert und möglicherweise gar nicht gespeichert (Dubois, F. et al. 1988). Besonders reich an Selen sind Skelettmuskel, Knochen und Leber, wobei es kein spezielles Speicherorgan für Selen gibt. Im Plasma ist es unter anderem an das Selenoprotein P,

die Thioredoxinreduktase und die Glutathionperoxidase gebunden (Brown, K.M. et al. 2001). Die tägliche Selenaufnahme sollte zwischen 50 und 200 µg liegen. Die Hauptausscheidung erfolgt nach Metabolisierung in Abhängigkeit von reduziertem Glutathion und der Glutathionreduktase über die Niere (Dubois, F. et al. 1988). Die Niere nimmt also als regulierendes Organ der Selenhomöostase eine bedeutende Stellung ein (Sanz Alaejos, M. et al. 1993).

Ein ausgewogener Selenhaushalt ist wichtig für den Erhalt eines gesunden Organismus. So wurde in der Literatur ein Zusammenhang zwischen verschiedenen Krankheitsbildern und einem Selenmangel hergestellt. Besonders sensibel auf ein Defizit an Selen reagiert der Herzmuskel. So kommt es beim Morbus Keshan, einer Kardiomyopathie, zu Myokardnekrosen mit fibrozellulärer Reaktion. Diese Kardiomyopathie wurde gehäuft in der Provinz Keshan, einer selenarmen Region im Nordosten Chinas, beobachtet. Außerdem soll das Risiko für kardiovaskuläre und karzinomatöse Erkrankungen besonders des Verdauungstraktes bei Serumkonzentrationen unter 45µg/l erhöht sein (Dubois, F. et al. 1988). Auch bei Leberzirrhosen ist ein Selendefizit zu verzeichnen, das die Hepatotoxizität von Alkohol noch verstärken kann (Dubois, F. et al. 1988). Eine Erklärung für ein gesteigertes Auftreten bestimmter Erkrankungen bei Selenmangel ist neben der verminderten oxidativen Abwehr in einer gestörten Immunantwort zu finden. Kiremidjian-Schumacher et al. beschrieben unter anderem eine Resistenzminderung gegenüber Infektionen aufgrund gestörter Funktionen und herabgesetzter Proliferation immunkompetenter Zellen (Kiremidjian-Schumacher, L. et al. 1987). Natürlich können auch Malassimilationssyndrome, wie sie bei Mukoviszidose oder Morbus Crohn vorkommen, zu einem Mangel führen. Zu hohe Konzentrationen des Spurenelements dagegen können toxische Wirkungen entfalten (Dubois, F. et al. 1988; Foster, L.H. et al. 1997). Allerdings treten die meist berufsbedingten Intoxikationen mit gastrointestinalen, respiratorischen, neurologischen und dermatologischen Störungen äußerst selten auf.

Eine Untersuchung über den Selenstatus bei Frauen unterschiedlichen Alters mit ähnlichen Ernährungsgewohnheiten ergab eine positive Korrelation von Plasmaselen und -estradiol und besonders hohe Selenspiegel bei perimenopausalen Frauen (Smith, A.M. et al. 2000). Diese hohen Werte perimenopausaler Frauen sind mit Ergebnissen anderer Vorstudien vereinbar, in denen ein Anstieg des Selens bis zum Alter von ca. 60 Jahren und danach ein Abfall nachgewiesen werden konnten (McAdam, P.A. et al.

1984). Andererseits haben Klinger et al. gefunden, dass bei Langzeiteinnahme der kontraceptionellen Wirkstoffe Ethinylestradiol und Dienogest der Serumselenspiegel den physiologischen Bereich weder über- noch unterschreitet (Klinger, G. et al. 1997). Mit unseren Ergebnissen konnten wir zwar signifikant höhere Selenwerte in Vollblut und Serum durch den Ovulationshemmer feststellen, dennoch bewegten sie sich im Normbereich. Deshalb scheint die Niere auch nicht mit einer gesteigerten Selenausscheidung regulierend einzugreifen.

Ob diese Veränderungen auf das Kontrazeptivum allein zurückzuführen sind, bleibt unklar. Die Langzeiteinnahme wirkt sich, nach unseren Ergebnissen zu urteilen, jedenfalls nicht negativ auf den Selensatus aus. Ähnlich wie in der vorausgehenden Studie von Smith et al. (Smith, A.M. et al. 2000) ist auch hier eine positive Korrelation zwischen Estradiol und Selen zu verzeichnen. Ein möglicher Alterseinfluss ist ebenfalls nicht auszuschließen.

Zur Beurteilung des Fettstoffwechsels und zur Abschätzung des Risikos für kardiovaskuläre Ereignisse werden unter anderem Triglyceride, LDL-, HDL- und Gesamtcholesterol herangezogen. Hohe LDL- und niedrige HDL-Spiegel sind Kofaktoren für ein erhöhtes Risiko von Gefäßerkrankungen (Chopra, M. et al. 1999). Als besonders atherogenetische Substanzen sind MDA-modifiziertes und oxidiertes LDL bekannt (Holvoet, P. et al. 1998).

Natürliche Östrogene, wie sie bei der postmenopausalen Hormontherapie eingesetzt werden, senken durch positive Beeinflussung des Fettstoffwechsels und durch ihre antioxidativen Wirkungen die Häufigkeit des Auftretens von atherosklerotischen Gefäßveränderungen. Dies ist möglicherweise auf eine Verminderung des LDL-Spiegels, geringere Penetration des LDL in die Gefäßwand, Hemmung von Lipidperoxidation, Entzündungsreaktionen und Zellproliferation, sowie gesteigerte fibrinolytische Aktivität des Endothels und Anstieg des HDL-Spiegels zurückzuführen (Holvoet, P. et al. 1998).

Anders verhält es sich mit synthetischen Sexualsteroiden hormonaler Kontrazeptiva. In den siebziger Jahren gab die gesteigerte Sterblichkeit aufgrund kardiovaskulärer Erkrankungen bei oraler Kontrazeption Anlass zu regen Diskussionen. Dennoch konnte

in den letzten Jahren ein Rückgang der thromboembolischen Ereignisse im Zusammenhang mit kontrazeptiven Hormonen verzeichnet werden. Diese Entwicklung ist auf eine Dosisreduktion des Ethinylestradiol im Kontrazeptivum, eine elektive Anwendung bei gesunden Frauen ohne Risikofaktoren und den bevorzugten Einsatz bei unter 35 Jährigen zurückzuführen (Ciavatti, M. et al. 1991).

Viele Studienergebnisse über Effekte hormonaler Kontrazeptiva auf den Lipidstatus, die als gesichert gelten, liegen bereits vor. Ein östrogeninduzierter Anstieg der Triglyceride im Serum ist bei fast allen Präparaten unabhängig von der Gestagenkomponente beschrieben worden (Walsh, B.W. et al. 1993; Teichmann, A. 1995; Crook, D. 1997). Es handelt sich hierbei um wenig atherogene VLDL-Partikel, die in der Leber abgebaut und kaum zu LDL umgewandelt werden (Wiegratz, I. et al. 1998). Eine geringe Gesamtcholesterinspiegelerhöhung kann mit dem Ethinylestradiol in Zusammenhang gebracht werden, die durch bestimmte Gestagene wie Desogestrel und Levonorgestrel verstärkt wird (Fotherby, K. et al. 1994; Foulon, T. et al. 2001). Das LDL-Cholesterol wird nur unwesentlich durch das Östrogen beeinflusst. Ein vorübergehender Anstieg des LDL-Cholesterols durch synthetische Östrogene ist aufgrund der hohen VLDL-Werte möglich. Schon nach wenigen Einnahmezyklen kann aber aufgrund einer östrogenbedingt gesteigerten hepatischen LDL-Rezeptordichte eine geringe Abnahme des LDL beobachtet werden (Wiegratz, I. et al. 1998). Anderweitige Veränderungen sind auf das jeweilige Gestagen zurückzuführen (Walsh, B.W. et al. 1993; Teichmann, A. 1995). Außerdem ist aufgrund des Östrogeneinflusses ein Anstieg des HDL-Cholesterols zu verzeichnen. Schwach antiöstrogen und antiandrogen wirkende Gestagene wie Desogestrel und Dienogest können diesen gewünschten Effekt unterstützen (Godsland, I.F. et al. 1991; Wiegratz, I. et al. 1998; Knopp, R.H. et al. 2001). Dagegen kann das nur schwach androgene, aber stark antiöstrogene Levonorgestrel diesem Anstieg entgegenwirken und sogar einen HDL-Cholesterol Abfall verursachen (Godsland, I.F. et al. 1991).

Mit unserer Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich die Langzeiteinnahme von 20 µg Ethinylestradiol und 2 mg Dienogest nicht ungünstig auf den Lipidstatus auswirkte. Alle Werte bis auf das HDL-Cholesterol befanden sich im Referenzbereich. Der Triglyceridanstieg bei gleichbleibendem LDL-Cholesterolspiegel ist unbedenklich und scheint das kardiovaskuläre Risiko nicht negativ zu beeinflussen (Wiegratz, I. et al.

1998). Der erhöhte HDL-Spiegel unter dem untersuchten Ovulationshemmer ist im Hinblick auf arteriosklerotische Veränderungen durchaus erwünscht. Denn natives HDL hat neben antioxidativen auch vasoprotektive Eigenschaften. Es fördert die Bildung von Prostacyclin, hemmt die zytokinvermittelte Zelladhäsion am Endothel und die LDL-induzierte Monozytenmigration, die in der Frühphase der Atherogenese auftreten (Bonnefont-Rousselot, D. et al. 1999). Außerdem wird durch HDL die Lipidperoxidation von in der Gefäßwand enthaltenen LDL wirksam verhindert (Bonnefont-Rousselot, D. et al. 1999).

6. Zusammenfassung

Die Untersuchung über die Langzeitwirkung synthetischer Sexualsteroiden auf das oxidative Gleichgewicht im weiblichen Organismus erbrachte folgende Ergebnisse (Tab.6.1) :

1. Die Glutathionkonzentration im Vollblut zeigte keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe. Tendenziell war aber eine Abnahme zu verzeichnen. Die Aktivität der antioxidativen Enzyme Glutathionperoxidase und Superoxiddismutase war in Serum, Urin bzw. Vollblut signifikant vermindert, wobei sich die Werte für die Peroxidase noch im physiologischen Bereich bewegten.

2. Die Konzentration von Malondialdehyd als Marker für Lipidperoxidation wurde mit signifikant höheren Werten im Urin gemessen. Der Vergleich der Serumwerte der Nichtraucher der beiden Gruppen ergab ebenfalls signifikant gesteigerte Konzentrationen unter oraler Antikonzeption. Die Konzentration im Speichel war dagegen nicht signifikant, aber tendenziell bei hormonaler Kontrazeption erhöht.

3. Die Bestimmung des antioxidativen Spurenelements Zink im Serum ergab unter Hormoneinfluss signifikant niedrigere, noch im Normbereich gelegene Werte. Im Vollblut war Zink nur bei den Nichtrauchern unter oraler Kontrazeption signifikant erhöht. In Speichel und Urin wurden keine signifikanten Unterschiede der beiden Gruppen festgestellt.

Für Selen wurden sowohl in Vollblut als auch Serum signifikant höhere Konzentrationen bei oraler Kontrazeption beobachtet, die allerdings im Referenzbereich lagen. Die Ausscheidung von Selen im Urin war dagegen nicht signifikant verändert.

Die Konzentrationen von Magnesium zeigten in keinem der untersuchten Medien, wie Vollblut, Serum, Urin und Speichel signifikante Unterschiede.

Für Calcium dagegen wurden stark erhöhte Werte im Speichel gefunden, während sie im Urin unverändert blieben.

4. Die Untersuchung von Eisen in Serum und Kupfer in Vollblut und Serum ergab signifikant höhere, außerhalb des Referenzbereichs gelegene Werte. Auch die Transportproteine Transferrin und Ceruloplasmin, gemessen im Serum, waren im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht.

5. Bei der Beurteilung des Lipidstatus wurden ein erhöhter HDL- und Gesamtcholesterolspiegel, sowie ein Triglyceridanstieg bei nicht signifikant verändertem LDL- beobachtet. Der Quotient aus LDL und HDL war signifikant erniedrigt.

Tab.6.1: Langzeitwirkung synthetischer Sexualsteroid (↔ keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe; ↑ signifikanter Anstieg der Konzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe; ↓ signifikanter Abfall der Konzentration; ↑ signifikanter Anstieg der Konzentration bei oraler Kontrazeption bezogen auf die Nichtraucher der beiden Gruppen; - Parameter wurde nicht untersucht)

	Serum	Vollblut	Urin	Speichel
Glutathion	-	↔	-	-
Glutathionperoxidase	↓	-	↓	↔
Superoxiddismutase	-	↓	-	-
Malondialdehyd	↑	-	↑	↔
Zink	↓	↑	↔	↔
Selen	↑	↑	↔	-
Magnesium	↔	↔	↔	↔
Calcium	-	-	↔	↑
Eisen	↑	↓	↔	-
Kupfer	↑	↑	-	-
Transferrin	↑	-	-	-
Coeruloplasmin	↑	-	-	-
Gesamtcholesterin	↑	-	-	-
HDL-Cholesterin	↑	-	-	-
LDL-Cholesterin	↔	-	-	-
Triglyceride	↑	-	-	-
LDL / HDL	↓	-	-	-

Mit der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, wie sich die Langzeiteinnahme eines niedrigdosierten hormonalen Kontrazeptivum auf das oxidative Gleichgewicht auswirkte. Es wurden diejenigen Parameter untersucht, die im Hinblick auf die Erfassung des Antioxidantienstatus wichtig erschienen.

Betrachtet man einzelne Ergebnisse, so scheint die oxidative Belastung, wie sie die Aktivitätsminderung der antioxidativen Enzyme Glutathionperoxidase und Superoxiddismutase bei gesteigerten Konzentrationen des toxischen Aldehyds MDA zeigten, unter Langzeiteinnahme des oralen Kontrazeptivums erhöht zu sein. Auch die Bestimmung der prooxidativen Elemente Kupfer und Eisen ergaben eine deutliche Konzentrationserhöhung, welche für Eisen vor allem durch die verminderte Abbruchblutung während der 7-tägigen Einnahmepause der Sexualsteroiden erklärt wird. Die antioxidativ wirkenden Spurenelemente Zink und Selen bzw. des Metalls Magnesium ergaben keine bedenklichen Veränderungen. Für Zink ist zwar eine Konzentrationsminderung im Serum zu verzeichnen, sie fällt aber nicht unter den Normbereich ab. Außerdem könnte eine Umverteilung des Spurenelements Zink in verschiedene Kompartimente dafür verantwortlich sein. Die Selenwerte dagegen bewegten sich im oberen Normbereich. Dies ist im Blick auf das prooxidative Gleichgewicht als positiv zu bewerten. Ein geringerer Verbrauch des Selen durch antioxidative Vorgänge kann aber nicht ausgeschlossen werden.

Die Auswirkungen des untersuchten Kontrazeptivum auf den Fettstoffwechsel sind als günstig anzusehen. Der Triglyceridanstieg wird bei gleichbleibendem LDL-Cholesterol als unbedenklich eingestuft. Die Veränderungen sind vor allem auf Ethinylestradiol zurückzuführen, dessen positive Effekte nur geringfügig durch das sehr schwach antiöstrogene Dienogest antagonisiert werden.

Die untersuchten Veränderungen sind sicherlich als eine Anpassungsreaktion der Langzeitwirkung synthetischer Sexualsteroiden zu verstehen, die von einem gesunden Organismus toleriert werden. Ob diese Veränderungen auf das Östrogen oder die Gestagenkomponente zurückzuführen ist, muss hier in einigen Fällen unbeantwortet bleiben und lässt sich nur durch weiterführende Studien klären. Allerdings nehmen noch zahlreiche andere Faktoren Einfluss auf die untersuchten Parameter. Schlaf- und Lebensgewohnheiten, wie Ernährung und Bewegung, entziehen sich meist einer Standardisierung, wie sie für klinische Studien eigentlich wünschenswert wäre. Wichtig

ist deshalb die richtige Wahl des hormonalen Kontrazeptivum, das neben den individuellen Lebensgewohnheiten auch Alter und Risikofaktoren mitberücksichtigt. Außerdem sollte man besonders bei Anwendung eines Hormonpräparats zur Kontrazeption auf eine ausgewogene Ernährung mit ausreichendem Vitamin- und Spurenelementgehalt achten, die eine Substitution nicht unbedingt notwendig machen.

In der vorliegenden Arbeit konnte durch die Bestimmung von Proteinen, speziellen Enzymen, Spurenelementen, Metallen und Lipiden ein Einblick in das oxidative Gleichgewicht bei Langzeitwirkung synthetischer Sexualsteroid eines hormonalen Kontrazeptivum gewonnen werden. Da hormonale Kontrazeptiva weiterhin als sichere Empfängnisverhütung eingesetzt werden und auch die postmenopausale Hormontherapie immer mehr an Bedeutung erlangt, ist diese Thematik auch in Zukunft von intensivem wissenschaftlichem Interesse. Durch nachfolgende Studien muss dieser Problematik im Hinblick auf die sich ständig erweiternden wissenschaftlichen Kenntnisse nachgegangen werden.

Literaturverzeichnis

- Amatayakul, K., Laokuldilok, T., Koottathep, S., Dejsarai, W., Prapamontol, T., Srirak, N., Tansuhaj, A. and Uttaravichai, C. (1994). The effect of oral contraceptives on protein metabolism. J Med Assoc Thai 77(10): 509-16.
- Berg, G., Kohlmeier, L. and Brenner, H. (1998). Effect of oral contraceptive progestins on serum copper concentration. Eur J Clin Nutr 52(10): 711-5.
- Bonnefont-Rousselot, D., Therond, P., Beaudeux, J.L., Peynet, J., Legrand, A. and Delattre, J. (1999). High density lipoproteins (HDL) and the oxidative hypothesis of atherosclerosis. Clin Chem Lab Med 37(10): 939-48.
- Brown, K.M. and Arthur, J.R. (2001). Selenium, selenoproteins and human health: a review. Public Health Nutr 4(2B): 593-9.
- Bucculo, G. and David, H. (1973). Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. Clin Chem 19: 476-482.
- Chilvers, D.C., Jones, M.M., Selby, P.L., Dawson, J.B. and Hodgkinson, A. (1985). Effects of oral ethinyl oestradiol and norethisterone on plasma copper and zinc complexes in post-menopausal women. Horm Metab Res 17(10): 532-5.
- Chopra, M. and Thurnham, D.I. (1999). Antioxidants and lipoprotein metabolism. Proc Nutr Soc 58(3): 663-71.
- Chung, S.C., Goldfarb, A.H., Jamurtas, A.Z., Hegde, S.S. and Lee, J. (1999). Effect of exercise during the follicular and luteal phases on indices of oxidative stress in healthy women. Med Sci Sports Exerc 31(3): 409-13.
- Ciavatti, M. and Renaud, S. (1991). Oxidative status and oral contraceptive. Its relevance to platelet abnormalities and cardiovascular risk. Free Radic Biol Med 10(5): 325-38.
- Crook, D. (1997). Multicenter study of endocrine function and plasma lipids and lipoproteins in women using oral contraceptives containing desogestrel progestin. UK Desogen Study Group. Contraception 55(4): 219-24.
- Dabrosin, C., Hammar, M. and Ollinger, K. (1998). Impact of oestradiol and progesterone on antioxidant activity in normal human breast epithelial cells in culture. Free Radic Res 28(3): 241-9.
- Dabrosin, C., Öllinger, K., Ungerstedt, U. and Hammar, M. (1997). Variability of Glutathione levels in normal breast tissue and subcutaneous fat during the menstrual cycle: an in vivo study with microdialysis technique. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 86: 1382-1384.
- Das, K. and Chowdhury, A.R. (1997). Metallic ion concentration during menstrual cycle in normally menstruating women. Indian J Med Sci 51(2): 52-4.
- Dati, F. and Baudner, S. (1992). Standardisation of immunochemical tests for apolipoprotein A-I and B. Diagnose & Labor 42: 183.
- Dubois, F. and Belleville, F. (1988). [Selenium: physiologic role and value in human pathology]. Pathol Biol (Paris) 36(8): 1017-25.
- Ellmann, G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. Arch Biochem Biophys 82: 70-77.

- Esterbauer, H., Schaur, R. and Zollner, H. (1991). Chemistry and Biochemistry of 4-Hydroxynonenal, Malondialdehyde and related aldehydes. Free Radic Biol Med 11: 81-128.
- Esterbauer, H., Waeg, G., Puhl, H., Dieber-Rotheneder, M. and Tatzber, F. (1992). Inhibition of LDL oxidation by antioxidants. In: Emetit, J. and Chande, B. (eds.). Free radicals and aging. Basel, Birkhäuser Verlag: 145-157.
- Fenton, H. (1894). Oxidation of tartatic acid in the presence of iron. J Chem Soc 65: 899.
- Fenton, H. (1899). Oxidation of certain organic acids in the presence of ferrous salts. Proc Chem Soc 15: 224.
- Flippo, R.M., Gosset, D., Hachulla, E., Savinel, P., Hadron, P.Y. and Devulder, B. (1987). Le zinc en pathologie humaine. Sem Hôp Paris 63: 2720-8.
- Flohe, L. (1988). Glutathione peroxidase. Basic Life Sci 49: 663-8.
- Ford, E.S. (2000). Serum copper concentration and coronary heart disease among US adults. Am J Epidemiol 151(12): 1182-8.
- Foster, L.H. and Sumar, S. (1997). Selenium in health and disease: a review. Crit Rev Food Sci Nutr 37(3): 211-28.
- Fotherby, K. and Caldwell, A.D. (1994). New progestogens in oral contraception. Contraception 49(1): 1-32.
- Foulon, T., Payen, N., Laporte, F., Bijaoui, S., Dupont, G., Roland, F. and Gros Lambert, P. (2001). Effects of two low-dose oral contraceptives containing ethinylestradiol and either desogestrel or levonorgestrel on serum lipids and lipoproteins with particular regard to LDL size. Contraception 64(1): 11-6.
- Fox, P.L., Mazumder, B., Ehrenwald, E. and Mukhopadhyay, C.K. (2000). Ceruloplasmin and cardiovascular disease. Free Radic Biol Med 28(12): 1735-44.
- Fox, P.L., Mukhopadhyay, C. and Ehrenwald, E. (1995). Structure, oxidant activity, and cardiovascular mechanisms of human ceruloplasmin. Life Sci 56(21): 1749-58.
- Frassinelli-Gunderson, E.P., Margen, S. and Brown, J.R. (1985). Iron stores in users of oral contraceptive agents. Am J Clin Nutr 41(4): 703-12.
- Freedman, A.M., Mak, I.T., Stafford, R.E., Dickens, B.F., Cassidy, M.M., Muesing, R.A. and Weglicki, W.B. (1992). Erythrocytes from magnesium-deficient hamsters display an enhanced susceptibility to oxidative stress. Am J Physiol 262(6): 1371-5.
- Garcia, M.J., Alegria, A., Barbera, R., Farre, R. and Lagarda, M.J. (2000). Selenium, copper, and zinc indices of nutritional status: influence of sex and season on reference values. Biol Trace Elem Res 73(1): 77-83.
- Godsland, I.F., Crook, D. and Wynn, V. (1991). Coronary heart disease risk markers in users of low-dose oral contraceptives. J Reprod Med 36(3 Suppl): 226-37.
- Gohil, K., Viguie, C., Stanley, W.C., Brooks, G.A. and Packer, L. (1988). Blood glutathione oxidation during human exercise. J Appl Physiol 64(1): 115-9.
- Haber, F. and Weiss, J. (1934). The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. Proc R Soc A 147: 332.

- Haberland, M.E., Olch, C.L. and Folgelman, A.M. (1984). Role of lysines in mediating interaction of modified low density lipoproteins with the scavenger receptor of human monocyte macrophages. J Biol Chem 259(18): 11305-11.
- Hassan, H.M. and Fridovich, I. (1981). Chemistry and biochemistry of superoxide dismutases. Eur J Rheumatol Inflamm 4(2): 160-72.
- Heese, H.D., Lawrence, M.A., Dempster, W.S. and Pocock, F. (1987). Reference values for serum copper, ceruloplasmin and zinc and haematological indices for healthy nulliparous females. S Afr Med J 72(7): 490-3.
- Hinzmann, R.D. (1997). Auf den Spuren eines Spurenelements - Über die Biochemie und die Analytik von Eisen, Transferrin, Ferritin und anderen Markern des Eisenstoffwechsels. Diagnostik Digest: 7-12.
- Hoff, H.F., O'Neil, J., Chisolm, G.M., Cole, T.B., Quehenberger, O., Esterbauer, H. and Jürgens, G. (1989). Modification of LDL with 4-hydroxynonenal, a propagation product of lipid peroxidation, induces uptake of LDL by macrophages. Arteriosclerosis(9): 538-549.
- Holben, D.H. and Smith, A.M. (1999). The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. J Am Diet Assoc 99(7): 836-43.
- Holvoet, P. and Collen, D. (1998). Oxidation of low density lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis. Atherosclerosis 137: 33-38.
- Inal, M.E., Kanbak, G. and Sunal, E. (2001). Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. Clin Chim Acta 305(1-2): 75-80.
- Jendryczko, A., Tomala, J. and Janosz, P. (1993). Effects of two low-dose oral contraceptives on erythrocyte superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities. Zentralbl Gynakol 115(11): 469-72.
- Johnson, P.E., Milne, D.B. and Lykken, G.I. (1992). Effects of age and sex on copper absorption, biological half-life, and status in humans. Am J Clin Nutr 56(5): 917-25.
- Kappus, H. (1985). Lipid peroxidation: mechanism, analysis, enzymology and biological relevance. In: Sies, H. (eds.). *Oxidative stress*. London, Academic Press: 273-310.
- Kiremidjian-Schumacher, L. and Stotzky, G. (1987). Selenium and immune response. Environ Res. 42: 277-303.
- Klinger, G., Dawczynski, H., Winnefeld, K., Tarnick, M., Scheler, R., Schubert, H. and Stelzner, A. (1980). Zur Bestimmung von Spurenelementen im Serum (Fe, Cu, Zn) und im Urin (Fe, Cu, Zn, Mn) sowie von Carrierproteinen bei hormonaler Kontrazeption. Z Arztl Fortbild (Jena) 74(22): 1077-84.
- Klinger, G., Seifert, M., Lippold, S., Rainer, U., Klinger, G. and Winnefeld, K. (2001). Oxidative Belastung und antioxidative Reaktion im Speichel von Parodontitispatientinnen unter Sexualsteroideinfluss. Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift 56: 562-566.
- Klinger, G., Winnefeld, K., Schubert, K., Streck, S. and Klinger, G. (1997). [Sex hormones and antioxidant status]. Med Klin 92 Suppl 3(3): 36-8.

- Knopp, R.H., Broyles, F.E., Cheung, M., Moore, K., Marcovina, S. and Chandler, W.L. (2001). Comparison of the lipoprotein, carbohydrate, and hemostatic effects of phasic oral contraceptives containing desogestrel or levonorgestrel. Contraception 63(1): 1-11.
- Kuhl, H. (1994). Kardiovaskuläre Effekte und Östrogen/Gestagen-Substitutionstherapie. Therapeutische Umschau 51(11): 748-53.
- Kuzniar, A., Kurys, P., Florianczyk, B., Szymonik-Lesiuk, S., Pasternak, K. and Stryjecka-Zimmer, M. (2001). The changes in the antioxidant status of heart during experimental hypomagnesemia in balb/c mice. Biomaterials 14(2): 127-33.
- Lew, H., Pyke, S. and Quintanilha, A. (1985). Changes in the glutathione status of plasma, liver and muscle following exhaustive exercise in rats. FEBS Lett 185(2): 262-6.
- Liukko, P., Erkkola, R., Pakarinen, P., Jarnstrom, S., Nanto, V. and Gronroos, M. (1988). Trace elements during 2 years' oral contraception with low-estrogen preparations. Gynecol Obstet Invest 25(2): 113-7.
- Mahapatra, S., Padhiary, K., Mishra, T.K., Nayak, N. and Satpathy, M. (1998). Study on body mass index, lipid profile and lipid peroxidation status in coronary artery disease. J Indian Med Assoc 96(2): 39-40, 42.
- Massafra, C., Buonocore, G., Berni, S., Gioia, D., Giuliani, A. and Vezzosi, P. (1993). Antioxidant erythrocyte enzyme activities during oral contraception. Contraception 47(6): 590-6.
- Massafra, C., Buonocore, G., Gioia, D. and Sargentini, I. (1996). Changes in the erythrocyte antioxidant enzyme system during transdermal estradiol therapy for secondary amenorrhea. Gynecol Endocrinol 10(3): 155-8.
- Massafra, C., Gioia, D., De Felice, C., Picciolini, E., De Leo, V., Bonifazi, M. and Bernabei, A. (2000). Effects of estrogens and androgens on erythrocyte antioxidant superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities during the menstrual cycle. J Endocrinol 167(3): 447-52.
- McAdam, P.A., Smith, D.K. and Feldman, E.B. (1984). Effect of age, sex, and race on selenium status of healthy residents of Augusta, Georgia. Bio. Trace Element Res. 6: 3-9.
- Meister, A. (1988). Glutathione metabolism and its selective modifications. Journal of Biological Chemistry 263: 17205-8.
- Meister, A. (1989). A brief history of glutathione and a survey of its metabolism and functions. In: Dolphin, D., Avramovic, O. and Poulsen, R. (eds.). Glutathione - Chemical, biochemical and medical aspects. New York, John Wiley & Sons: 1-48.
- Meister, A. (1992). On the antioxidant effects of ascorbic acid and glutathione. Biochem Pharmacol 44: 1079-87.
- Michaelis, L. (1946). Currents in Biochemical Research. New York, Wiley Interscience.
- Michaelsson, G. and Edqvist, L.E. (1984). Erythrocyte glutathione peroxidase activity in acne vulgaris and the effect of selenium and vitamin E treatment. Acta Derm Venereol 64(1): 9-14.

- Milne, D.B. and Johnson, P.E. (1993). Assessment of copper status: effect of age and gender on reference ranges in healthy adults. Clin Chem 39(5): 883-7.
- Moore, K. and Roberts, L.J.n. (1998). Measurement of lipid peroxidation. Free Radic Res 28(6): 659-71.
- Newhouse, I.J., Clement, D.B. and Lai, C. (1993). Effects of iron supplementation and discontinuation on serum copper, zinc, calcium, and magnesium levels in women. Med Sci Sports Exerc 25(5): 562-71.
- Oberdisse, E. (1997). Hormonale Kontrazeption. In: Oberdisse, E., Hackenthal, E. and Kuschinsky, K. (eds.). *Pharmakologie und Toxikologie*. New York, Heidelberg, Springer-Verlag: 490-3.
- Paglia, D.E. and Valentine, W.N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med 70: 158-169.
- Palomo, I., Grebe, G., Valladares, G., Bustos, P. and Ferrada, M. (1990). [Hemoglobin, serum iron and transferrin saturation among users of intrauterine devices and oral contraceptive agents]. Rev Med Chil 118(5): 506-11.
- Patel, R.P. and Darley-USmar, V.M. (1999). Molecular mechanisms of the copper dependent oxidation of low-density lipoprotein. Free Radic Res 30(1): 1-9.
- Plecko, T., Rückgauer, M. and Kruse-Jarres, J.D. (1998). Der oxidative Stress. Klin Chemie 13(9): 624-30.
- Reinhold, J. (1975). Trace elements - a selective survey. Clin Chem 21: 476-500.
- Reunanen, A., Knekt, P., Marniemi, J., Maki, J., Maatela, J. and Aromaa, A. (1996). Serum calcium, magnesium, copper and zinc and risk of cardiovascular death. Eur J Clin Nutr 50(7): 431-7.
- Rice-Evans, C.A. (1994). Formation of free radicals and mechanisms of action in normal biochemical processes and pathological states. In: Rice-Evans, C.A. and Burdon, R.H. (eds.). *Free radical damage and its control*. Amsterdam, Elsevier Science B.V.: 131-53.
- Roeschlau, P., Bernt, E. and Gruber, W. (1974). Enzymatic determination of total cholesterol in serum. Z Klin Chem Klin Biochem 12(5): 226.
- Rosen, G.M., Pou, S., Ramos, C.L., Cohen, M.S. and Britigan, B.E. (1995). Free radicals and phagocytic cells. Faseb J 9(2): 200-9.
- Rosenfeld, M.E., Khoo, J.C., Miller, E., Parthasarathy, S., Palinski, W. and Witztum, J.L. (1991). Macrophage-derived foam cells freshly isolated from rabbit atherosclerotic lesions degrade modified lipoproteins, promote oxidation of low-density lipoproteins, and contain oxidation-specific lipid-protein adducts. J Clin Invest 87(1): 90-9.
- Rude, R. (1993). Magnesium metabolism and deficiency. Endocrine crises 22: 377-395.
- Salonen, J., Nyyssonen, K., Korpela, H., Toumilehto, J., Seppanen, R. and Salonen, R. (1992). High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in Eastern Finish men. Circulation 86: 803-11.
- Sanz Alaejos, M. and Diaz Romero, C. (1993). Urinary selenium concentrations. Clin Chem 39(10): 2040-52.

- Sastre, J., Pallardo, F.V., Garcia de la Asuncion, J. and Vina, J. (2000). Mitochondria, oxidative stress and aging. Free Radic Res 32(3): 189-98.
- Shivakumar, K. and Kumar, B.P. (1997). Magnesium deficiency enhances oxidative stress and collagen synthesis in vivo in the aorta of rats. Int J Biochem Cell Biol 29(11): 1273-8.
- Siems, W.G., Brenke, R., Sommerburg, O. and Grune, T. (1999). Improved antioxidative protection in winter swimmers. Qjm 92(4): 193-8.
- Siems, W.G., Krämer, K. and Grune, T. (1996). Störungen im Glutathionsystem und klinische Konsequenzen. Pharm Ztg 141(46): 4343-52.
- Siems, W.G., Krämer, K. and Grune, T. (1996). Zur Chemie und Biologie des Glutathionsystems: ein Überblick. Pharm Ztg 141: 4239-48.
- Siems, W.G., Sommerburg, O., Mayer, H. and Grune, T. (1998). Die wichtigsten Radikalquellen im menschlichen Organismus. Pharm Ztg 143(19): 1515-27.
- Signorelli, S., Neri, S., Sciacchitano, S., Pino, L.D., Costa, M., Pennisi, G., Ierna, D. and Caschetto, S. (2001). Duration of menopause and behavior of malondialdehyde, lipids, lipoproteins and carotic wall artery intima-media thickness. Maturitas 39: 39-42.
- Singh, D., Sharma, M.K. and Pandey, R.S. (1998). Changes in superoxide dismutase activity and estradiol-17 beta content in follicles of different sizes from ruminants. Indian J Exp Biol 36(4): 358-60.
- Smith, A.M., Chang, M.P. and Medeiros, L.C. (2000). Generational differences in selenium status of women. Biol 75(1-3): 157-65.
- Sternberg, J.C. (1977). A rate nephelometer for measuring specific proteins by immunoprecipitin reactions. Clin Chem 23(8): 1456-1464.
- Stohs, S.J. and Bagchi, D. (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. Free Radic Biol Med 18(2): 321-36.
- Teichmann, A. (1995). Metabolic profile of six oral contraceptives containing norgestimate, gestodene, and desogestrel. Int J Fertil Menopausal Stud 40(Suppl 2): 98-104.
- Trinder, P. (1969). Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an oxygen acceptor. Ann Clin Biochem(6): 24-27.
- Tyrer, L. (1984). Nutrition and the pill. J Reprod Med 29: 547-550.
- Van Gaal, L.F., Vertommen, J. and De Leeuw, I.H. (1998). The in vitro oxidizability of lipoprotein particles in obese and non-obese subjects. Atherosclerosis 137 Suppl: S39-44.
- Vir, S.C. and Love, A.H. (1979). Effect of oral contraceptive usage on zinc and copper in serum and hair. Int J Vitam Nutr Res 49(3): 330-5.
- Vir, S.C. and Love, A.H. (1981). Zinc and copper nutriture of women taking oral contraceptive agents. Am J Clin Nutr 34(8): 1479-83.
- Viroonudomphol, D., Pongpaew, P., Tungtrongchitr, R., Phonrat, B., Supawan, V., Vudhivai, N. and Schelp, F.P. (2000). Erythrocyte antioxidant enzymes and blood

- pressure in relation to overweight and obese Thai in Bangkok. Southeast Asian J Trop Med Public Health 31(2): 325-34.
- Walsh, B.W. and Sacks, F.M. (1993). Effects of low dose oral contraceptives on very low density and low density lipoprotein metabolism. J Clin Invest 91(5): 2126-32.
- Wei, Y.H., Ma, Y.S., Lee, H.C., Lee, C.F. and Lu, C.Y. (2001). Mitochondrial theory of aging matures - roles of mtDNA mutation and oxidative stress in human aging. Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei) 64(5): 259-70.
- Whank, R., Hampton, E. and Whank, D. (1994). Magnesium homeostasis and clinical disorders of mangesium deficiency. Ann Pharmacother 28(220-226).
- Wiegratz, I., Jung-Hoffmann, C., Gross, W. and Kuhl, H. (1998). Effect of two oral contraceptives containing ethinyl estradiol and gestodene or norgestimate on different lipid and lipoprotein parameters. Contraception 58(2): 83-91.
- Winnefeld, K. (1996). Antioxidantien und Radikale: Analytik und klinische Bedeutung. J Lab Med 20(4): 199-204.
- Winnefeld, K., Sperschneider, H., Thiele, R., Peiker, G. and Klinger, G. (1995). Antioxidantienstatus, Analytik und klinische Bedeutung. Labor-Medizin 18: 355-7.

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. G. Klinger und Herrn Prof. Dr. K. Winnefeld für die Bereitstellung des Themas und die umfassende Betreuung meiner Arbeit. Herrn Dr. R. Vollandt danke ich für die hilfreiche Beratung zur statistischen Auswertung der Daten.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir das Studium ermöglicht haben und meinen Freunden für die Anregungen und Ermutigungen.

Lebenslauf

Stephanie Jeanette Bremicker

Geburtsdatum: 3. Januar 1977

Geburtsort: Backnang / Baden-Württemberg

Familienstand: ledig

Schulbildung:

1983-1987 Grundschole Oppenweiler / Baden-Württemberg

1987-1996 Max-Born-Gymnasium Backnang

1996 allgemeine Hochschulreife (Note: 1,6)

Studium:

seit 1996 Studium der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena / Thüringen

1998 Ärztliche Vorprüfung (Note: gut)

1999 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: gut)

2001 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: gut)

seit 2001 Praktisches Jahr:

12/01-03/02 Innere Medizin im Hôpital régional de Sion / Schweiz – Lehrkrankenhaus der Universität von Lausanne

seit 04/02 Chirurgie am Klinikum der FSU-Jena

ab 08/02 Pädiatrie am Klinikum der FSU-Jena

12/02 Abschluss des Hochschulstudiums mit dem 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Jena, den

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den